

18+

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ

THE BULLETIN OF HEMATOLOGY

Том XIX №2 2023

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

**ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ
THE BULLETIN OF HEMATOLOGY**

Том XIX № 2 2023

Ежеквартальный научно-практический журнал
Основан в сентябре 2004 года

Главный редактор

Заслуженный деятель науки РФ

Доктор медицинских наук

профессор

С.С. Бессмельцев

Санкт-Петербург

2023

Редакционная коллегия:

С. С. Бессмельцев (главный редактор), заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕ, Санкт-Петербург;

А. Н. Богданов, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург;

Л. Н. Бубнова, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург;

Т. В. Глазанова (ответственный секретарь), доктор медицинских наук, Санкт-Петербург;

С. В. Грицаев, доктор медицинских наук, Санкт-Петербург;

С. А. Гусева, доктор медицинских наук, профессор, г. Киев (Украина);

И. Л. Давыдкин, доктор медицинских наук, профессор, г. Самара;

Н. М. Калинина, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург;

Л. П. Папаян, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург;

Р. М. Рамазанова, доктор медицинских наук, профессор, г. Алматы (Республика Казахстан);

Н. А. Романенко, доктор медицинских наук, Санкт-Петербург;

О. А. Рукавицын, доктор медицинских наук, профессор, г. Москва;

В. Н. Чеботкевич, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург.

Редакционный совет:

К. Т. Бобоев, доктор медицинских наук, профессор, г. Ташкент (Республика Узбекистан)

В. И. Мазуров, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Санкт-Петербург;

И. В. Поддубная, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, г. Москва;

Т. И. Поспелова, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, г. Новосибирск;

А. Г. Румянцев, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, г. Москва;

Е. Н. Паровичникова, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный работник здравоохранения РФ.

Зав. редакцией — кандидат медицинских наук, доцент

Е. Р. Шилова, тел.: (812) 717-58-57

Ответственный секретарь — доктор медицинских наук

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

Импакт-фактор РИНЦ: 2-х летний 0,379; 5-летний 0,486

Адрес редакции:

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

E-mail: bloodscience@mail.ru

Сайт: www.bloodscience.ru

За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.

При перепечатке материалов ссылка на журнал «Вестник гематологии» обязательна.

Мнение членов редакционной коллегии не всегда совпадает с мнением авторов статей.

Обложка и художественное оформление *М. В. Келер*

Компьютерная верстка *М. В. Келер*

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

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

Подписано в печать 26.04.2023 г. Дата выхода 26.04.2023 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

18 +

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 85.

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

Отпечатано в ООО «Комильфо», Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 23.

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

Бессмельцев С.С.

ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕАСОМЫ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ВЫСОКОГО ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА	4
---	---

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Глазанова Т.В., Павлова И.Е., Беляева Е.В., Торшина Ю.С., Шилова Е.Р.

ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19	18
---	----

Кобилианская В.А., Матвиенко О.Ю., Шилова Е.Р., Силина Н.Н., Бессмельцев С.С.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАБОТЫ СИСТЕМЫ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ ПРИ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИОННОМ СИНДРОМЕ У ПАЦИЕНТОВ С ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ НОЧНОЙ ГЕМОГЛОБИНУРИЕЙ	26
---	----

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Шуваев В.А., Мартынкевич И.С., Кустова Д.В., Байков В.В., Криволапов Ю.А., Белякова Е.А., Барам Д.В.

ХРОНИЧЕСКИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫЙ ЛЕЙКОЗ И АТИПИЧНЫЙ ХРОНИЧЕСКИЙ МИЕЛОЛЕЙКОЗ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	30
---	----

Павлова Т.Ю., Валиев Т.Т.

СПИД-АССОЦИИРОВАННЫЕ ЛИМФОМЫ У ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	45
--	----

ГЕМАТОЛОГИЯ: ВЧЕРА, СЕГОДНЯ, ЗАВТРА

Гиндина Т.Л., Смирнова А.Г., Бондаренко С.Н.

ОСТРЫЙ МИЕЛОИДНЫЙ ЛЕЙКОЗ (ЛЕКЦИЯ).....	54
--	----

VII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

«ГЕНЕТИКА ОПУХОЛЕЙ КРОВЕТВОРНОЙ СИСТЕМЫ – ОТ ДИАГНОСТИКИ К ТЕРАПИИ» 19 – 20 МАЯ 2023 Г.

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ.....	68
----------------------	----

CONTENTS

EDITORIAL ARTICLE

Bessmeltsev S.S.

PROTEASOME INHIBITORS IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA OF HIGH CYTOGENETIC RISK	4
---	---

ORIGINAL ARTICLES

Glazanova T.V., Pavlova I.E., Beliaeva E.V., Torshina Yu.S., Shilova E.R.

STATE OF THE IMMUNE SYSTEM IN PATIENTS AFTER A TRANSFER OF COVID-19 INFECTION	18
---	----

Kobilianskaya V.A., Matvienko O.Yu., Shilova E.R., Silina N.N., Bessmeltsev S.S.

THE EFFECTIVENESS OF THE SYSTEM OF NATURAL ANTICOAGULANTS IN HYPERCOAGULATION SYNDROME IN PATIENTS WITH PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA	26
---	----

LITERATURE REVIEW

Shuvaev V.A., Martynkevich I.S., Kustova D.V., Baykov V.V., Krivolapov Yu.A., Belyakova E.A., Baram D.V.

CHRONIC NEUTROPHILIC LEUKEMIA AND ATYPICAL CHRONIC MYELOID LEUKEMIA	30
---	----

Pavlova T.Y., Valiev T.T.

AIDS-ASSOCIATED LYMPHOMAS IN CHILDREN (REVIEW).....	45
---	----

HEMATOLOGY: YESTERDAY, TODAY, TOMORROW

Gindina T.L., Smirnova A.G., Bondarenko S.N.

ACUTE MYELOID LEUKEMIA ABSTRACT.....	54
--------------------------------------	----

ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕАСОМЫ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ВЫСОКОГО ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА

Резюме

В последние годы был достигнут значительный прогресс в улучшении выживаемости без прогрессирования (PFS) и качества жизни пациентов с множественной миеломой (ММ). Это стало возможным благодаря внедрению в клиническую практику новых препаратов, которые были разработаны на основе мультиомных молекулярно-генетических исследований при ММ. Результаты этих исследований также позволили оценить генетическую гетерогенность опухолевых клеток при ММ. Было показано, что пациенты с ММ могут иметь совершенно разные спектры обнаруженных генетических дефектов в опухоли. Высокая гетерогенность множественной миеломы является одной из основных причин различий в эффективности лекарственных препаратов. Выявленные мутации *del(17p)*, *t(4;14)*, *t(14;16)*, *t(14;20)*, *gain 1q* или *p53* считаются факторами высокого риска при множественной миеломе. В настоящем обзоре всесторонне обсуждается значение некоторых хромосомных aberrаций в стратификации риска пациентов с ММ. В нем описываются наиболее распространенные aberrации, а также те, которые связаны с высоким и низким

риском раннего прогрессирования ММ и уже были включены в различные международные прогностические шкалы. В статье анализируется эффективность ингибиторов протеасомы при высоком риске множественной миеломы. В частности, приведены результаты многоцентровых клинических исследований эффективности иксазомиба в комбинации с леналидомидом, помалидомидом, дексаметазоном. Представлены данные пациентов с ММ из исследований TOURMALINE-MM1/-MM2/-MM3/-MM4 по оценке преимущества иксазомиба плюс леналидомид-дексаметазон (Rd) против плацебо-Rd (TOURMALINE-MM1/-MM2) или иксазомиба против плацебо (TOURMALINE-MM3/-MM4) при высоком риске. Терапия иксазомибом обратила внимание на отчетливое увеличение медианы выживаемости без прогрессии у пациентов с цитогенетическими аномалиями высокого риска и цитогенетическими нарушениями сверхвысокого риска по сравнению с подгруппами стандартного риска.

Ключевые слова: иксазомиб, рецидивы/рефрактерные формы множественной миеломы, беспрогрессивная выживаемость, высокий риск, стандартный риск.

Bessmeltsev S.S.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology

PROTEASOME INHIBITORS IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA OF HIGH CYTOGENETIC RISK

Abstract

In recent years, there has been a substantial progress in improving progression-free survival (PFS) and quality of life of multiple myeloma (MM) patients. This has become possible through implementation of novel drugs into clinical practice which were developed on the basis of multiomic molecular genetic studies in MM. The results of these studies also enabled to assess genetic heterogeneity of tumor cells in MM. It was shown that MM patients can have quite different spectra of detected genetic defects in the tumor. The high heterogeneity of multiple myeloma is one of the main reasons for the differences in the effectiveness of drugs. The presence of *del(17p)*, *t(4;14)*, *t(14;16)*, *t(14;20)*, *gain 1q*, or *p53* mutation is considered high-risk multiple myeloma. The present review comprehensively discusses the value of some chromosomal aberrations in risk stratification of MM patients. The article analyzes the effectiveness of

proteasome inhibitors at high risk of multiple myeloma. In particular, the results of multicenter clinical studies of the efficacy of ixazomib in combination with lenalidomide, pomalidomide, dexamethasone are given. Presented data from patients with MM from the TOURMALINE-MM1/-MM2/-MM3/-MM4 studies on the evaluation of the benefits of ixazomib plus lenalidomide-dexamethasone (Rd) against placebo-Rd (TOURMALINE-MM1/-MM2) or ixazomib against placebo (TOURMALINE-MM3/-MM4) at high risk. Ixazomib therapy has drawn attention to a distinct increase in median progression-free survival in patients with high-risk cytogenetic abnormalities and ultra-high-risk cytogenetic disorders compared to standard risk subgroups.

Keywords: ixazomib, relapsed/refractory multiple myeloma, progression-free survival, high-risk, standard risk.

За последние два десятилетия терапевтические стратегии множественной миеломы (ММ) значительно продвинулись. Это стало возможным благодаря внедрению в клиническую практику новых препаратов, в частности ингибиторов протеасомы, которые были разработаны на основе мультиомных молекулярно-генетических исследований. Результаты этих исследований также позволили оценить генетическую гетерогенность опухолевых клеток при ММ, что позволило выявить типы и распространенность однонуклеотидных вариаций, структурных хромосомных aberrаций и аномальных копий хромосом в геноме злокачественных плазматических клеток [1-3]. Не подлежит сомнению то, что ингибиторы протеасомы стали краеугольным камнем терапии ММ [4]. Их применение, причем до прогрессии, привело к улучшению долгосрочных результатов по сравнению с терапией фиксированной длительности [5-7]. Однако, несмотря на достигнутые явно позитивные результаты, исходы пациентов с ММ зависят от ряда прогностических факторов, включая цитогенетический риск. Действительно, выживаемость пациентов с определенными цитогенетическими аномалиями, как правило, остается низкой [2,8].

ММ характеризуется выраженной геномной гетерогенностью, обусловленной множеством численных и структурных изменений хромосом, которые играют ключевую роль в онкогенезе, приводя к генному дисбалансу, изменению структуры и функции генов и впоследствии – к нарушению регуляции клеточного цикла и дифференцировки клеток.

Первичными событиями являются транслокации хромосом с участием локуса тяжелой цепи иммуноглобулина (IgH) и гипердиплоидии с несколькими копиями нечетных хромосом. Частота перестроек с вовлечением локуса гена IgH/14q32 от 40 до 50%. Участвующими партнерскими хромосомами/локусами являются: 4p16 (FGFR3/MMSET) (12-15%), 11q13 (CCND1) (15-20%), 16q23 (MAF) (3%), 6p21 (CCND3) (<5%) и 20q11 (MAFB) (1%) [3].

Транслокации t(11;14)(q13;q32), t(6;14)(p21;q32) рассматриваются в качестве факторов стандартного риска, при которых медиана общей продолжительности жизни больных составляет 8-10 лет [9], тогда как t(4;14)(p16;q32), t(14;16) (q32;q23), t(14;20) (q32;q12) являются факторами неблагоприятного прогноза ММ. Медиана общей продолжительности жизни этих больных варьирует от 14,4 до 30,1 мес. [10].

Цитогенетические аномалии, существенно ухудшающие прогноз ММ, (t(4;14), del(17/17p), t(14;16), t(14;20), негипердиплоидия и цепь (1q)), в 2016 году включены Международной рабочей группой по изучению миеломы (IMWG) в определение высокого риска [11]. Транслокация t(4;14) приводит к дерегуляции рецептора фактора роста фибробластов 3 (FGFR3) и домена SET миеломы (MMSET) [12]. Поскольку FGFR3 не экспрессируется у одной трети

пациентов с t(4;14), геном-мишенью, скорее всего, является MMSET [13]. Транслокация t(4;14) связана с ухудшением беспродвинутой и общей выживаемости (PFS/OS) [14]. Использование высокодозной терапии и аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (АутоТГСК) значительно снижает негативное влияние t(4;14) и увеличивает выживаемость пациентов [15].

Транслокация t(14;16) нарушает регуляцию протоонкогена c-MAF и прогнозирует плохой исход ММ [16]. Однако в одном из крупных исследований IFM неблагоприятного воздействия t(14;16) на прогноз ММ не выявлено, возможно, потому, что 60 % пациентов, вошедших в это исследование, получали тандемную АутоТГСК, что, кстати, указывает на пользу тандемной трансплантации у этой категории больных [17]. Транслокация t(14;20) приводит к дисрегуляции онкогена MAFB, что также ухудшает прогноз множественной миеломы [18].

Транслокация t(11;14) участвует в регуляции циклина D1 и ее выявление свидетельствует о благоприятном прогнозе ММ [14]. Эта транслокация связана с экспрессией CD20 и лимфоплазмочитарной морфологией. Гипердиплоидия, которая обнаруживается в ~50 % случаев впервые выявленной множественной миеломы, связана с улучшением PFS/OS [12]. В исследовании MRC IX сосуществующая гипердиплоидия не повлияла на течение множественной миеломы [19]. В целом t(6;14), t(11;14), gain(5q) и гипердиплоидия указывают на стандартный риск множественной миеломы.

Среди вторичных, появляющихся в ходе опухолевой трансформации, перестроек хромосом при ММ наиболее часто выявляются делеция локуса 13q14/моносомия 13 (-13/13q-), амплификация локуса 1q21 (amp1q21), делеция 17p13 с потерей гена TP53 (del17p13/TP53) и транслокация с вовлечением локуса гена cMYC/8q24 (t(8q24)/cMYC) [20].

Амплификация 1q21 является одним из наиболее распространенных хромосомных нарушений при ММ и связана с прогрессирующим течением заболевания. Амплификация 1q21 часто обнаруживается с del(1p32), что ухудшает негативное влияние на прогноз [21].

Моносомия 13, или делеция локуса 13q14, встречается примерно в 45% случаев и длительное время считалась фактором неблагоприятного прогноза. Однако разработка новых лекарственных препаратов изменила ситуацию. Было установлено, что неблагоприятное воздействие del(13q) наблюдается только в случае одновременного выявления del(17p) и t(4;14), в то время как единственное хромосомное нарушение в группе больных, получающих современные таргетные препараты, она не ухудшает выживаемость больных ММ [22,23].

Пациенты с ≥3 копиями 1q имеют худший исход лечения, отражающий действие таких генов, как CKS1B. В целом комбинации с ≥3 хромосомными на-

рушениями относят к ультра- (сверх) высокому риску с выживаемостью <2 лет [24].

Транслокации t(4;14), t(14;16), t(14;20) и del(17/17p) и любой негипердиплоидный кариотип свидетельствуют о высоком цитогенетическом риске ММ независимо от лечения. В современной модели стратификации риска при ММ учитываются показатели ISS, неблагоприятные хромосомные аномалии и высокая активность ЛДГ [25,26]. Хромосомные нарушения могут отличаться в первом и более позднем рецидиве из-за клональной эволюции, которая может повлиять на эффективность лечения. Например, амплификация 1q21 и делеция 1p чаще выявляется у больных с рецидивов, чем у вновь диагностированных пациентов.

Высокая гетерогенность ММ является одной из основных причин различий в эффективности лекарственных препаратов. Пациенты с ММ могут иметь совершенно разные спектры обнаруженных генетических дефектов в опухоли.

Среди врачей существует общий консенсус в отношении того, что лечение ингибиторами протеасомы приносит пользу пациентам с цитогенетическими аномалиями высокого риска. Действительно, установлено, что бортезомиб, похоже, улучшает негативное прогностическое воздействие t(4;14) [27]. В IFM-2005-01, при использовании протокола бортезомиб/дексаметазон, наблюдались более высокие показатели ответа и общей выживаемости (OS) по сравнению с триплетом винкристин/доксорубин/дексаметазон (VAD). В другом исследовании эта комбинация привела к улучшению бессобытийной и общей выживаемости пациентов с t(4;14), но не улучшила результаты лечения больных с del(17p) (4-летняя OS = 50 % против 79 %). В то же время, в крупном исследовании NOVON65/GMMG-HD4 индукционная и поддерживающая терапия на основе бортезомиба показали улучшенный исход для пациентов с del(17p) в сравнении с группой больных, получавших терапию без включения бортезомиба (медиана PFS = 26 против 12 мес., P = 0,024); 3-летняя OS = 69 % против 17 %, (P = 0,028).

По результатам многофакторного анализа установлено, что бортезомиб-содержащие режимы терапии существенно снижают негативное влияние del(17p13) на беспрогрессивную выживаемость (PFS) (P <0,0001) и OS (P <0,0001) больных ММ, в то время как режимы терапии без бортезомиба не оказывали статистически значимого влияния на PFS (P = 0,28) или OS (P = 0,2) [28]. Напротив, в исследовании GEM 2005 индукционная терапия по схеме бортезомиб/талидомид/дексаметазон (VTD) с последующей АутоТГСК и поддерживающей терапией бортезомибом не улучшила общую выживаемость при высоком риске [29]. Между тем, группа GIMEMA сравнила эффективность двух схем – VTD и TD (бортезомиб/дексаметазон ± талидомид). Все больные, участвовавшие в этом, исследовании, по-

лучали ту или иную программу в индукции с последующей тандемной АутоТГСК и консолидацией. В подгруппе больных с t(4;14) OS составила 69 % vs 37 % в пользу VTD против 74 % vs 63 % без t(4;14) и/или del(17p) [30]. И, наконец, метаанализ 4 рандомизированных клинических исследований показал, что посттрансплантационный полный + близкий к полному ответ среди больных, получавших бортезомиб, был сходным при высоком (del(17p) + t(4;14)) и стандартном цитогенетическом риске [31].

Что касается лечения пожилых пациентов с ММ, то по результатам исследования VISTA, комбинация MP + бортезомиб (VMP) не оказала никакого влияния на общую выживаемость при высоком риске в сравнении со стандартным риском (OS = 56 % vs 71 %) [32]. Более того, по данным клинического исследования Pethema, в котором сопоставлялась эффективность VMP (бортезомиб/мелфалан/преднизолон) с VPT (бортезомиб/преднизолон/талидомид) с последующей поддерживающей терапией бортезомибом или талидомидом, при высоком риске PFS и OS были короче, чем при стандартном риске [33].

Таким образом, представленные данные по влиянию бортезомиба на хромосомные аномалии высокого риска разноречивы. Тем не менее существуют убедительные доказательства тому, что бортезомиб в группе пациентов, подходящих для АутоТГСК, частично преодолевает неблагоприятное воздействие t(4;14) и, возможно, del(17p). У пациентов, не являющихся кандидатами на АутоТГСК, подобного эффекта при выявлении t(4;14) в сочетании с del(17p) не наблюдается.

Карфилзомиб в монорежиме не улучшал PFS/OS у больных с рецидивами/рефрактерными формами ММ (PPMM) с t(4;14) или del(17p) [34]. Однако при применении карфилзомиба в комбинации с помалидомидом и дексаметазоном PFS и OS при высоком и стандартном риске у больных PPMM были сходными [35]. Показательным является исследование фазы III ASPIRE, по результатам которого выживаемость без прогрессии (PFS) при PPMM значительно улучшилась в группе пациентов, получавших карфилзомиб/леналидомид/дексаметазон (KRd) по сравнению с леналидомидом и дексаметазоном (Rd) [36]. Из 417 пациентов, с известным цитогенетическим статусом риска, 100 пациентов (24 %) были классифицированы как высокий риск (KRd, n = 48; Rd, n = 52), а 317 (76 %) – стандартный риск (KRd, n = 147; Rd, n = 170). При высоком цитогенетическом риске лечение по схеме KRd увеличило медиану PFS на 9 мес. по сравнению с лечением Rd. У пациентов со стандартным цитогенетическим риском прибавка PFS, в группе KRd в сравнении с Rd, составила 10 мес. (рисунок 1).

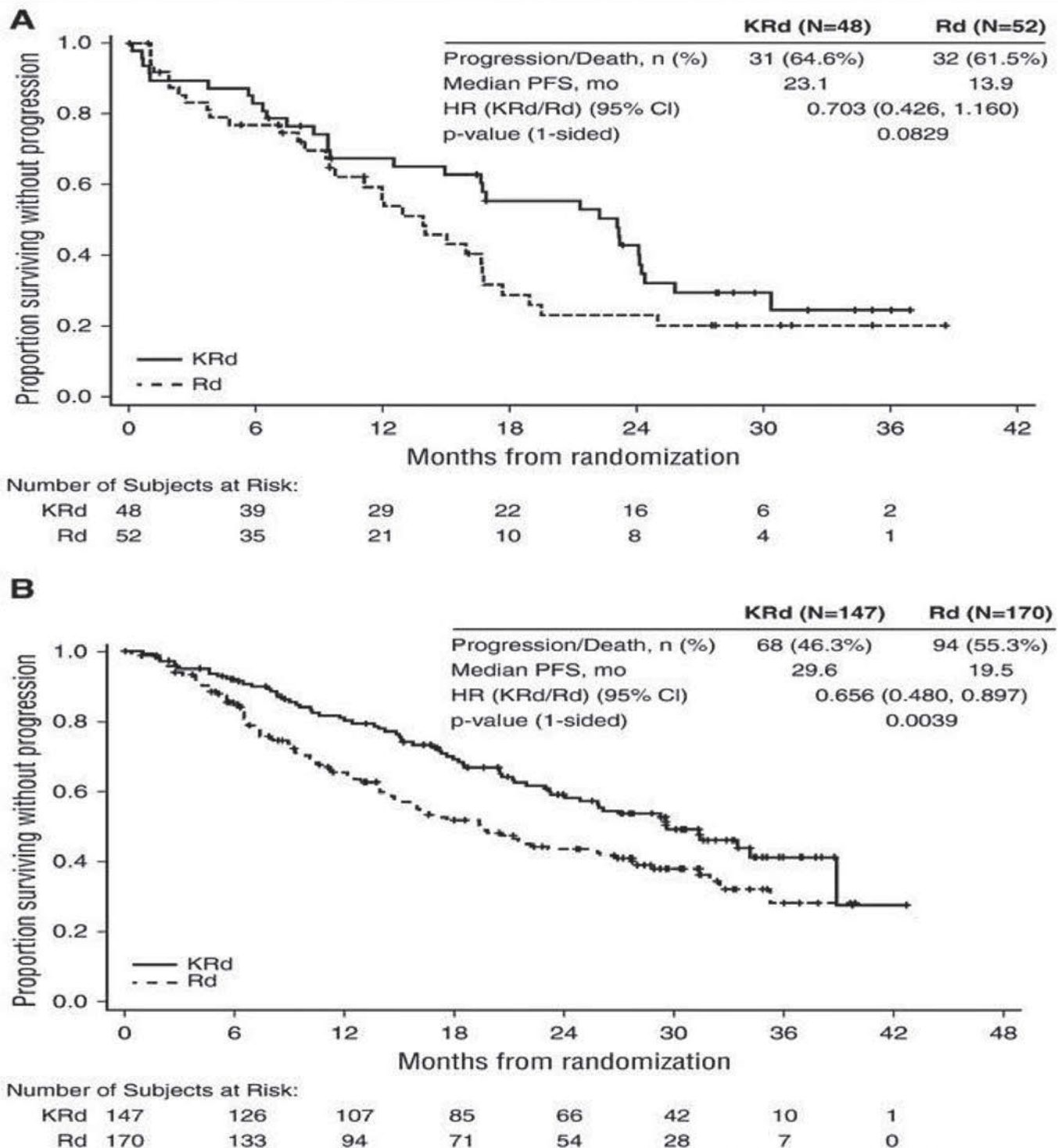


Рис. 1. Оценка Каплана-Мейера PFS по статусу цитогенетического риска на базовом уровне. (A) Пациенты в подгруппе высокого риска (верхняя кривая при использовании KRd, нижняя – Rd). (B) Пациенты в подгруппе стандартного риска (верхняя кривая при использовании KRd, нижняя – Rd). **Примечание.** По вертикали – беспрогрессивная выживаемость, по горизонтали – месяцы от рандомизации.

Эффективность пероральной терапии на основе иксазомиба против плацебо при высоком риске продемонстрирована в ряде исследований фазы III [37-41].

В клиническом исследовании TOURMALINE-MM1 участвовали пациенты с рецидивирующей, рефрактерной или рецидивирующей и рефрактерной множественной миеломой (PPMM) с высоким цитогенетическим риском. Пациенты, получавшие иксазомиб плюс леналидомид-дексаметазон (Ixa-Rd), имели аналогичную выживаемость без прогрессирования (PFS) с цитогенетикой стандартного риска по сравнению с пациентами, получившими плацебо-Rd [37]. Медианы PFS в группах высокого и стандартного риска (21,4 мес. и 20,6 мес.) мало различались. У пациентов с del(17p) и с изолированной t(4;14) или t(14;16) наблюдалось сходное преимущество Ixa-Rd vs placebo-Rd в отношении PFS. Медиана выживаемости без прогрессирования в подгруппе пациентов с del(17p) на иксазомибе превысила таковую в группе плацебо на 1 год и составила 21,4 мес. vs 9,7 мес. соответственно (отношение рисков HR = 0,60), а в подгруппе пациентов с t(4;14) без del(17p) или t(14;16) без del(17p) – практически на 6 мес. (18,5 месяца и 12,0 мес., HR = 0,65). Преимущество в отношении PFS в группе Ixa-Rd по сравнению с placebo-Rd было устойчивым при анализе различных пороговых значений для положительных результатов del(17p) и t(4;14). То есть, добавление иксазомиба к Rd существенно нивелировало повышенный риск, создаваемый неблагоприятными цитогенетическими аномалиями. Наряду с беспрогрессивной выживаемостью, пациенты с высоким, а также сверхвысоким цитогенетическим риском продемонстрировали преимущества Ixa-Rd по сравнению с плацебо-Rd по результатам финального анализа общей выживаемости (HR <1) [38].

Аналогичным образом, в исследовании TOURMALINE-MM2 было показано, что пациенты с впервые диагностированной множественной миеломой (ВДММ) с цитогенетикой высокого риска, получавших Ixa-Rd, имели лучшие показатели PFS по сравнению с плацебо-Rd [39]. Так, в группе больных ММ на Ixa-Rd или placebo-Rd при высоком цитогенетическом риске медиана PFS (mPFS) составила 23,8 против 18,0 месяцев (HR = 0,690; P = 0,019) соответственно.

В последнее время иксазомиб стал успешно применяться в поддерживающей терапии, и эксперты NCCN рекомендуют его как молодым, так и пожилым пациентам с ММ, особенно в группе высокого риска [NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Multiple Myeloma. Version 4.2022 — December 14, 2021]. Установлено, что иксазомиб эффективно работает в поддерживающей терапии при высоком цитогенетическом риске. Так, в клиническом исследовании TOURMALINE-MM3 выявлено что среди больных с высоким цитогенетическим риском, применение

иксазомиба в поддерживающей терапии как после аутологичной трансплантации гемопоэтических клеток (АутоТГСК), так и терапии, не содержащей АутоТГСК, отдаленные результаты гораздо лучше по сравнению с плацебо [40] и TOURMALINE-MM4 [41]. В исследовании, в группе пациентов с высоким цитогенетическим риском, доля пациентов, достигших 24 мес. PFS, была численно выше в группе иксазомиба по сравнению с группой плацебо (оценка Каплана-Мейера 46 % по сравнению с 24 %). Обращало на себя внимание важное для практической медицины обстоятельство, а именно, беспрогрессивная выживаемость увеличилась на фоне поддерживающей терапии иксазомибом по сравнению с группой плацебо как у пациентов, ранее не получавших ингибиторы протеасом (p = 0,038), так и у пациентов, получавших их (p = 0,011) [41].

Определение определенных цитогенетических аномалий позволяет выявить пациентов высокого риска, но не все пациенты с высоким риском демонстрируют одинаковый ответ на терапию, и эффективность доступных вариантов лечения варьируется в зависимости от наличия конкретных цитогенетических аномалий [11]. Поэтому подходы к лечению должны основываться на оценке индивидуальных цитогенетических маркеров [43]. В настоящее время клинические испытания, оценивающие реакцию на ММ-терапию с учетом конкретных цитогенетических аномалий, ограничены [43,44], поэтому эксперты IMWG заявили, что анализ цитогенетических подгрупп в клинических исследованиях, сравнивающих различные методы лечения – важная цель [11].

Весьма важным представляется анализ эффективности иксазомиба с учетом индивидуальных цитогенетических маркеров по результатам четырех клинических исследований TOURMALINE (TOURMALINE-MM1, -MM2, -MM3 и -MM4), проведенный Wee-Joo Chung et al. [45]. Авторы оценили связь между PFS и индивидуальным цитогенетическим риском, причем попытались выяснить, получают ли такие пациенты с ММ пользу от терапии на основе иксазомиба [45]. Наряду с данными четырех рандомизированных плацебо-контролируемых испытаний фазы III, в анализ были включены результаты двух лечебных вмешательств. В TOURMALINE-MM1 (NCT01564537), -MM2 (NCT01850524), -MM3 (NCT02181413) и -MM4 (NCT02312258) участвовали взрослые пациенты зарегистрированные в 147, 157, 167 и 187 медицинских центрах из 26, 8, 30 и 34 стран соответственно [37,39-41]. Оцениваемые пациенты были разделены на подгруппы с учетом выявления одной или нескольких цитогенетических аномалий. Обнаружение del(17p) и/или t(4;14) и/или t(14;16) было классифицировано как «высокий риск», а пациенты с аномалиями высокого риска ≥1 и/или amp1q21 были классифицированы как «сверхвысокий риск». При отсутствии этих ге-

нетических аномалий доступных для тестирования, больных относили к группе стандартного риска. Если цитогенетические аномалии были не известны, не определены или отсутствовали, пациент считался неклассифицируемым. Всего в анализ было включено 2247 пациентов, при этом у 497 (22 %) больных выявлены аномалии, характерные для высокого риска, а у 1750 (78 %) – стандартного риска (таблица 1). Из них 270 из 497 (54 %) пациентов и 958 из 1750 (55 %) пациентов получили терапию на основе иксазомиба в подгруппах высокого риска и стандартных рисков соответственно (таблица 1). Расширенная цитогенетика высокого риска (цитогенетические аномалии высокого риска и/или amp1q21) можно было оценить в общей сложности

у 2098 пациентов (таблица 1). Из них 555 из 1143 (49 %) пациентов, получавших терапию на основе иксазомиба, и 479 из 955 (50 %) пациентов, получавших терапию на основе плацебо, имели цитогенетические аномалии высокого риска ≥ 1 и/или amp1q21 и были классифицированы как сверхвысокий (расширенный) риск (таблица 1). Соответственно 588 (51 %) и 476 (50 %) пациентов, получавших иксазомиб- и плацебо-терапию, были классифицированы как стандартный риск. Медиана последующего наблюдения в объединенном анализе составила 25,6 месяца (12,7, 54,6, 29,7 и 21,3 месяца в TOURMALINE-MM1, TOURMALINE-MM2, TOURMALINE-MM3 и TOURMALINE-MM4 соответственно).

Таблица 1

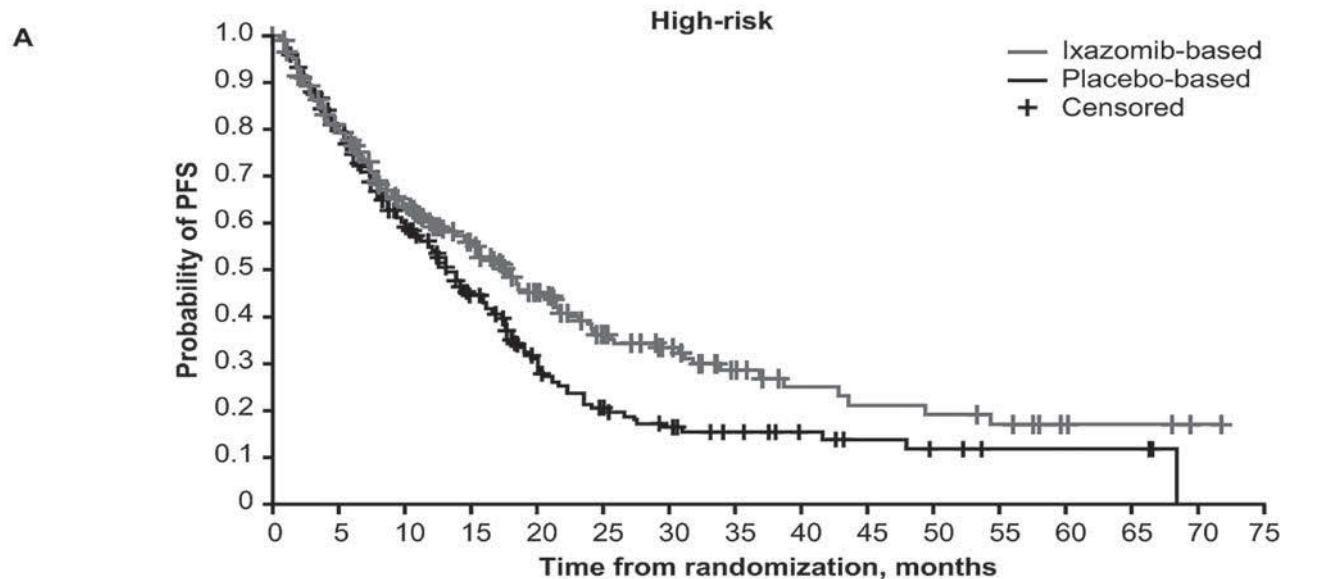
**Характеристика больных
с учетом цитогенетического риска и программ лечения**

Больные, n (%)	del(17p), t(4;14) и t(14;16) (n=2247)				del(17p), t(4;14) t(14;16) и amp1q21 (n=2098)			
	Иксазомиб-содержащие (n=1228)		Плацебо-содержащие (n=1019)		Иксазомиб-содержащие (n=1143)		Плацебо-содержащие (n=955)	
	Высокий риск	Стандартный риск*	Высокий риск	Стандартный риск*	Сверх-высокий риск	Стандартный риск*	Сверх-высокий риск	Стандартный риск*
TOURMALINE-MM1	75	200	62	216	155	122	154	126
TOURMALINE-MM2	60	231	63	234	134	164	146	153
TOURMALINE-MM3	61	252	54	152	116	154	88	89
TOURMALINE-MM4	74	275	48	190	150	148	91	108
Всего	270 (22)	958 (78)	227 (22)	792 (78)	555 (49)	588 (51)	479 (50)	476 (50)

Примечание. * - В группу стандартного риска вошли пациенты с неклассифицируемым риском (комплементарный стандартный риск).

Установлено, что в подгруппах пациентов высокого риска с иксазомиб- и плацебо-терапией, mPFS составила 17,8 против 13,2 мес. (HR = 0,74, CI 95 %: 0,59–0,93; p = 0,0086) Для пациентов подгруппы стандартного риска медиана PFS была выше и составила 26,3 против 17,6 мес. соответственно (HR=

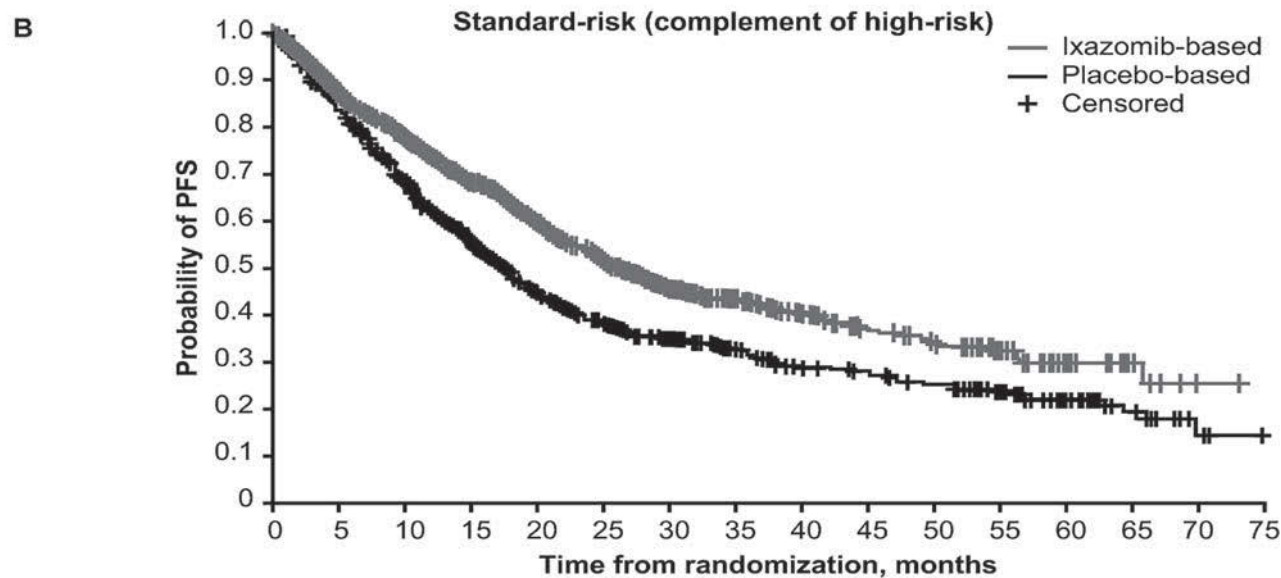
0,70, 95 % CI: 0,62–0,80; p = 0,0001) (рис. 2А и 2В). В подгруппах сверхвысокого риска медиана PFS составила 18,1 мес. для пациентов, получавших терапию на основе иксазомиба и 14,1 мес. – плацебо-режим (HR= 0,75, 95 % CI: 0,64–0,87; p = 0,0002).



Patients at risk, *n*

Ixazomib-based	270	203	148	101	65	43	33	19	13	11	10	8	4	3	1	0
Placebo-based	227	172	117	73	42	27	19	14	10	7	5	3	3	3	0	0

		Events	Median PFS, months	HR (95% CI)	Log-rank <i>p</i> value
Patients	Ixazomib-based	150	17.8	0.74 (0.59–0.93)	0.0086
	Placebo-based	156	13.2		



Patients at risk, *n*

Ixazomib-based	957	764	648	480	359	265	171	118	84	66	56	41	21	8	1	0
Placebo-based	792	611	481	315	217	163	120	96	76	69	60	44	27	15	4	0

		Events	Median PFS, months	HR (95% CI)	Log-rank <i>p</i> value
Patients	Ixazomib-based	428	26.3	0.7 (0.62–0.80)	0.0001
	Placebo-based	450	17.6		

Рис. 2. Беспрогрессивная выживаемость по Kaplan–Meier у больных ММ высокого и стандартного риска, получавших иксазомиб-содержащие (Ixazomib-based) или плацебо-содержащие (placebo-based) схемы терапии. А - высокий риск (High-risk), В – стандартный риск (комплементарный – Standart-risk- (complement of high-risk)). CI – доверительный интервал, HR – отношение шансов, PFS – беспрогрессивная выживаемость.

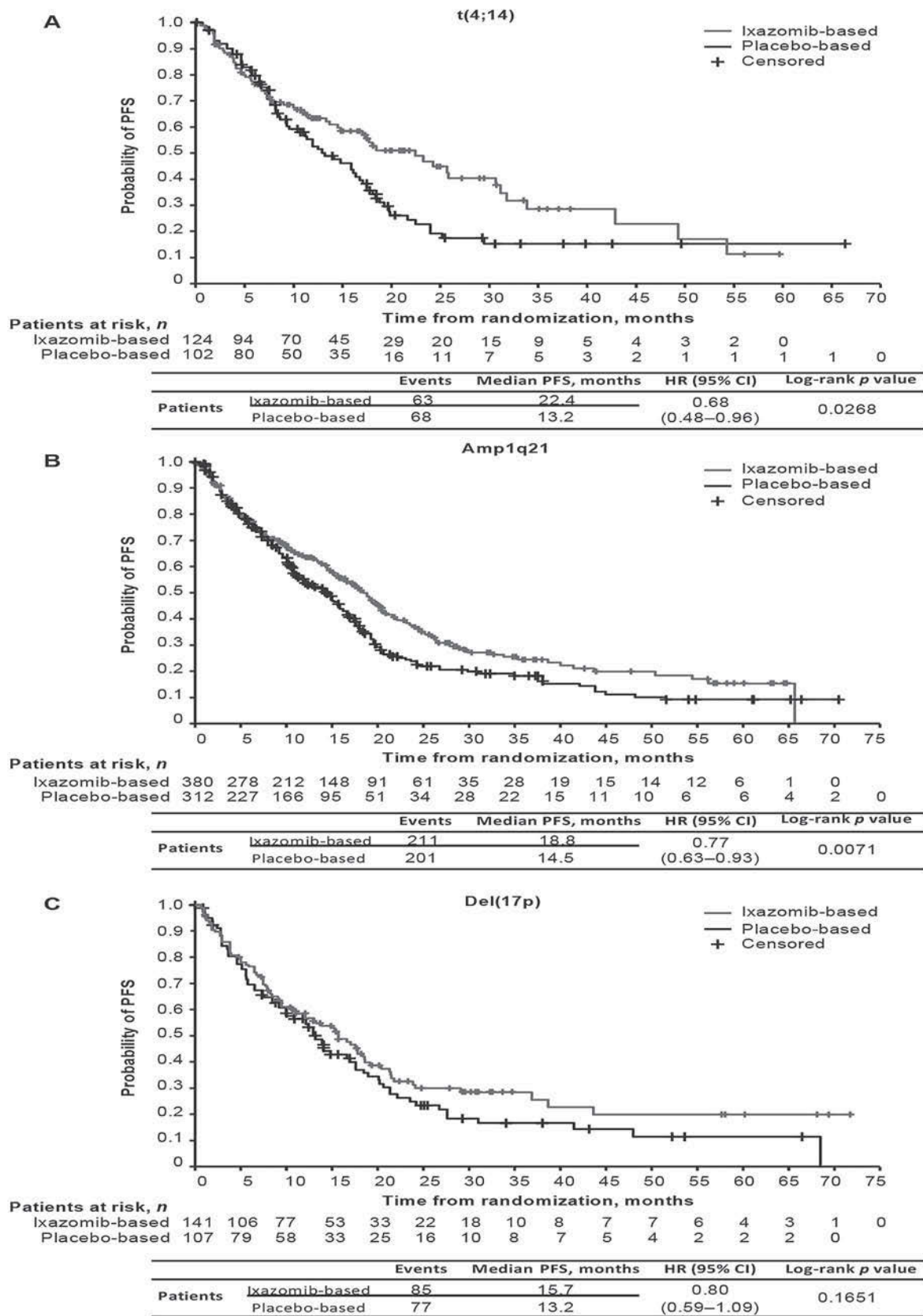


Рис. 3. Беспрогрессивная выживаемость по Карпан–Meier у больных ММ с учетом специфических цитогенетических аномалий, получавших терапию на основе иксазомиба vs placebo. А - t(4;14), В - ат1q21, С - del(17p). CI - доверительный интервал, HR - отношение шансов, PFS – выживаемость свободная от прогрессии.

Далее была проанализирована беспрогрессивная выживаемость с учетом индивидуальных цитогенетических факторов риска. У пациентов с $t(4;14)$ медиана PFS, при использовании иксазомиба против плацебо, составила 22,4 мес. против 13,2 мес. (HR = 0,68, 95% CI: 0,48–0,96; $p = 0,0268$ (рисунок 3А), а для пациентов с $amp1q21$ – 18,8 мес. против 14,5 мес. (HR= 0,77, 95 % CI: 0,63–0,93; $p = 0,0071$) (рис. 3В). Наиболее низкие, но сходные значения беспрогрессивной выживаемости зарегистрированы среди пациентов основной и контрольной подгруппах с $del(17p)$. Медиана PFS больных с иксазомиб- и плацебо-терапией составила 15,7 и 13,2 мес. (HR = 0,80, 95 % CI: 0,59–1,09; $p = 0,1651$ (рис. 3С).

Таким образом, наиболее отчетливо положительное воздействие иксазомиб по сравнению с плацебо оказывает на $t(4;14)$ (разница по медиане PFS более 9 мес.), промежуточное – на $amp1q21$ (разница более 4 мес.) и умеренное на $del(17p)$ (разница 2,5 мес.).

Чтобы оценить влияние $del(17p)$ на исходы независимо от лечения, проанализировали PFS в соответствии с наличием $del(17p)$ и стандартного риска у пациентов, получивших только плацебо-терапию. Медиана PFS составила 17,6 против 13,2 мес. (HR = 0,69, 95 % CI: 0,54–0,88; $p = 0,0023$), то есть разница 4,4 мес. Для анализа у пациентов с $t(14;16)$ было только 11 событий у 16 пациентов, получающих терапию на основе иксазомиба, и 14 событий у 23 пациентов, получающих плацебо-терапию; медиана PFS составила 11,4 и 15,9 мес. соответственно (HR= 1,21; 95 % CI: 0,55–2,69; $p = 0,634$).

Был проведен анализ чувствительности PFS; отношение рисков в группах с иксазомиб- и плацебо-терапией составило 0,71 (95 % CI: 0,57–0,89; $p = 0,0033$) и 0,68 (95 % CI: 0,59–0,77; $p = 0,0001$) для пациентов с цитогенетическими аномалиями высокого риска. Сходные значения получены для пациентов в подгруппе сверхвысокого риска (HR = 0,70, 95 % CI: 0,60–0,82; $p = 0,0001$) и стандартного риска (HR=0,67 (95 % CI: 0,55–0,80; $p = 0,0001$). У пациентов с $del(17p)$, $t(4;14)$ и $amp1q21$ HR для PFS пациентов на терапии иксазомибом и плацебо составляло 0,75, 0,67 и 0,72.

Кроме того, был проведен анализ беспрогрессивной выживаемости больных с цитогенетическими аномалиями высокого риска, находящихся на комбинированной терапии Ixa-Rd (TOURMALINE-MM1 и TOURMALINE-MM2) по сравнению с монорежимом иксазомиба в поддерживающей терапии (TOURMALINE-MM3 и TOURMALINE-MM4). У пациентов с цитогенетическими аномалиями высокого риска отношение шансов для PFS с иксазомиб- и плацебо-терапией в TOURMALINE-MM1 и TOURMALINE-MM2 (комбинация Ixa-Rd) составило 0,64 (95 % CI: 0,46–0,89; $p = 0,007$). В TOURMALINE-MM3 и TOURMALINE-MM4 (поддерживающая терапия иксазомибом), HR составило 0,83 (95% CI: 0,61–1,13; $p = 0,2456$). Медиана PFS для пациентов,

получающих иксазомиб в комбинации с Rd против поддерживающей терапии иксазомибом, составила 21,4 против 14,8 мес. (рисунок 4). Для пациентов, получающих плацебо-режимы, медиана PFS составила 12,9 против 13,2 мес. для комбинированной и одноагентной терапии. Для пациентов в подгруппе стандартного риска HR для PFS с иксазомиб- и плацебо в исследованиях TOURMALINE-MM1 и TOURMALINE-MM2 составило 0,74 (95 % CI: 0,6–0,9; $p = 0,0029$), а в TOURMALINE-MM3 и TOURMALINE-MM4 – 0,62 (95 % CI: 0,52–0,74; $p < 0,0001$).

В целом в когортах больных, получавших триплет Ixa-Rd, по сравнению с одноагентной терапией в поддержке, медиана PFS составила 35,3 против 24,1 мес., а для пациентов, получающих соответствующий плацебо-режим, медиана PFS равнялась 19,4 против 14,7 мес. соответственно.

Таким образом, анализ четырех исследований фазы III TOURMALINE продемонстрировал преимущество PFS при терапии на основе иксазомиба независимо от наличия специфических неблагоприятных цитогенетических аномалий у пациентов с ММ. Терапия на основе иксазомиба продлила медиану беспрогрессивной выживаемости по сравнению с плацебо-терапией для пациентов с высоким риском. Причем обнаружено сходство между подгруппами пациентов с высоким риском (HR= 0,74) и сверхвысоким риском (HR = 0,75) и соответствующими дополнительными подгруппами стандартного риска (HR = 0,70 и 0,71). Подчеркнем, что в TOURMALINE-MM1 медиана PFS при применении иксазомиба в сочетании с Rd увеличилась до аналогичного уровня пациентов со стандартным цитогенетическим риском, т.е., по сути, иксазомиб преодолел высокий риск, что существенно улучшило прогноз для пациентов с РРММ с цитогенетикой высокого риска [48]. Кроме того, значимое увеличение общей выживаемости наблюдалось у пациентов с высоким и сверхвысоким цитогенетическим риском, получавших иксазомиб в сочетании с Rd [38].

С практической точки зрения, важным представляется то, что в подгрупповом анализе специфических цитогенетических аномалий было продемонстрировано большее преимущество PFS при терапии иксазомибом для пациентов с цитогенетическими аномалиями $t(4;14)$ и $amp1q21$. Однако в целом иксазомиб в сочетании с Rd или в качестве поддерживающей терапии не отменяет негативного воздействия цитогенетических аномалий высокого риска, что согласуется с ранее сообщенными результатами применения иксазомиба у пациентов с впервые выявленной ММ, не подлежащих АутоТГСК (TOURMALINE-MM2) [39]), у пациентов, получающих иксазомиб в поддерживающей терапии (TOURMALINE-MM3 [40] и TOURMALINE-MM4 [41]), и результатами реальной клинической практики [46,47].

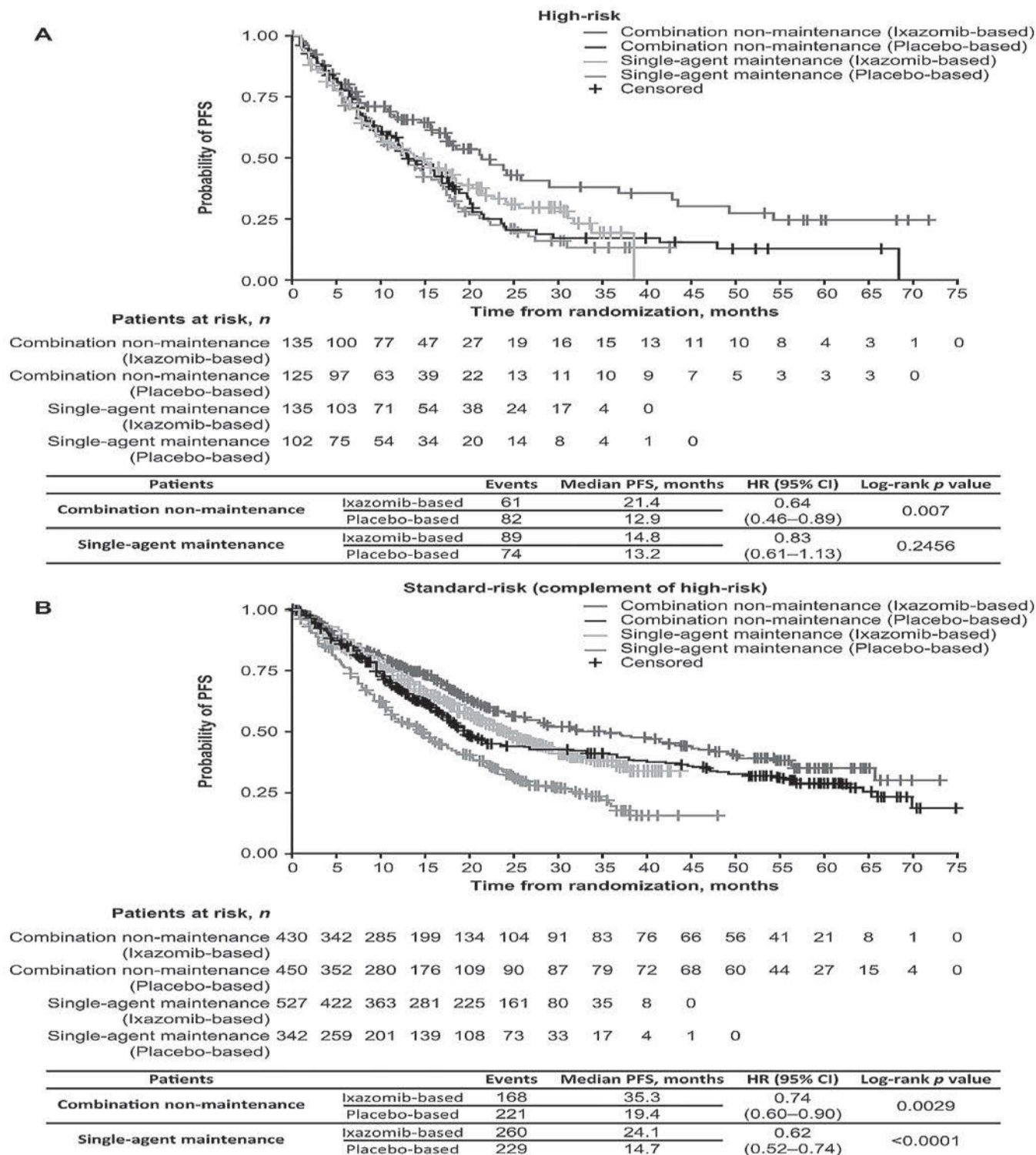


Рис. 4. Оценка беспрогрессивной выживаемости (PFS) по Kaplan–Meier для группы больных высокого или стандартного риска, получавших иксазомиб- или плацебо терапию.

Примечание. А – высокий цитогенетический риск, В – стандартный риск (комплементарный). CI – конфиденциальный интервал, HR – отношение рисков, PFS – беспрогрессивная выживаемость. Combination non-maintenance (Ixazomib-based) – комбинированная не поддерживающая терапия (иксазомиб-содержащая); Combination non-maintenance (Placebo-based) – комбинированная не поддерживающая терапия (плацебо-содержащая); Single-agent maintenance (Ixazomib-based) – один агент в поддерживающей терапии (иксазомиб); Single-agent maintenance (Placebo-based) – один агент в поддерживающей терапии (плацебо)

Объединенный анализ, представленный выше, включал в себя два исследования, оценивающих эффективность иксазомиба в монорежиме (TOURMALINE-MM3 и TOURMALINE-MM4), и два исследования, в которых пациенты получали триплет Ixa-Rd (TOURMALINE-MM1 и TOURMALINE-MM2). Применение триплетов, возможно, повлияло на способность иксазомиба значимо понизить негативное воздействие высокого риска. Было отмечено, что у пациентов с аномалиями высокого риска mPFS в группе пациентов с иксазомибом в сочетании с Rd выше, чем плацебо в сочетании с Rd (HR = 0,64), и чем только иксазомиб против плацебо (HR = 0,83). Напротив, у пациентов со стандартными цитогенетическими аномалиями преимущество PFS наблюдалось как с комбинированным лечением (Ixa-Rd), так и с монорежимом иксазомиба, но отношение рисков для PFS больных с Ixa-Rd против плацебо-Rd было выше (HR = 0,74), чем отношение рисков для монорежима иксазомиба против плацебо (HR = 0,62) [45].

Эти результаты подтверждают выводы TOURMALINE-MM1 о том, что иксазомиб в сочетании с Rd эффективнее у пациентов с цитогенетическими аномалиями высокого риска и может улучшить прогноз этих пациентов [48]. Дальнейшие анализы в подгруппах высокого риска и сверхвысокого риска в соответствии с конкретными цитогенетическими аномалиями выявили преимущество PFS в группах иксазомиб-содержащих режимов терапии больных с t(4;14) (HR = 0,68), amp1q21 (HR = 0,77) и del(17p) (HR = 0,80). Иксазомиб против плацебо-содержащей терапии увеличил медиану PFS у пациентов с t(4;14) и amp1q21 на 9,2 и 4,3 мес. соответственно. Терапия на основе иксазомиба продлила медиану PFS на 2,5 месяца у пациентов с del(17p). Более отчетливое увеличение беспрогрессивной выживаемости, наблюдаемое у пациентов с t(4;14) и amp1q21, свидетельствует о том, что улучшение исходов в подгруппах высокого риска было в первую очередь обусловлено различиями PFS у пациентов с этими более частыми цитогенетическими аномалиями. Число пациентов в подгруппе t(14;16) было небольшим, и выводы, основанные на относительном вкладе этой цитогенетической аномалии в PFS, сделаны быть не могут.

Еще одно короткое, но привлекающее интерес исследование, опубликовано в 2021 г. Szudy-Szczyrek A. et al. [49]. Девять пациентов в возрасте 52-82 лет, получивших иксазомиб (схема Ixa-Rd) по программе раннего доступа, были включены в исследование. Все пациенты соответствовали критериям PPM и имели высокий риск (t(4;14), t(14;16), del17p или +1q21). Медиана продолжительности терапии иксазомибом составила 12 месяцев. Один пациент с множественными цитогенетическими аберрациями и экстрамедуллярной плазмочитомой умер из-за прогрессирования после двух месяцев лечения. У оставшихся пациентов был достигнут объективный

ответ на лечение, и в четырех случаях он был квалифицирован как очень хороший частичный ответ. Наблюдаемые побочные эффекты включали нейтропению, инфекции и отек (в трех случаях 3 степень). Восемь пациентов продолжают лечение, в двух случаях было принято решение о снижении дозы леналидомида. Эти результаты также свидетельствуют о потенциально высокой эффективности и хорошем профиле безопасности Ixa-Rd-терапии у пациентов с PPM и неблагоприятной цитогенетикой.

К настоящему времени уже получены данные по эффективному использованию иксазомиба не только с леналидомидом, но с циклофосфамидом, помалидомидом, антиCD38. Так, Krishnan A. et al. опубликовали результаты исследования фазы I/II, в котором оценивалась эффективность иксазомиба в сочетании с помалидомидом у больных с рецидивами/рефрактерными формами MM. В это исследование вошли больные с цитогенетическими аномалиями высокого риска (амплификация 1q, del17p, t(4,14) + ampl 1q). Частота общего ответа и контроль над опухолевым процессом достигнуты у 50 % (95 % CI: 21,1-78,9) и 92 % (95 % CI: 61,5-99,8) больных соответственно. У 17 % больных (95 % CI: 2,1-48,4) зарегистрирован очень хороший частичный ответ [50].

Мы хотим обратить внимание на то, что результаты клинических исследований зачастую не совпадают с результатами реальной клинической практики [51]. Однако на сегодняшний день имеются неопровержимые доказательства тому, что в реальных условиях Ixa-Rd может быть предпочтительным вариантом для длительного лечения, например, ослабленных пациентов, пациентов с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями, с кардиальной токсичностью, связанной с применением кардиотоксических препаратов. А как иксазомиб работает в группе больных высокого риска?

Этому посвящен ряд работ, в которых представлены результаты оценки эффективности иксазомиба, в том числе, при высоком риске, в реальной клинической практике. Так, в исследовании Sokol J. et al. тестирована эффективность триплета Ixa-Rd (иксазомиб+леналидомид+дексаметазон). Большинство пациентов имели рецидив заболевания и высокий риск по шкале ISS: 18 (17 %), 29 (27 %) и 59 (56 %) соответственно ISS I, ISS II и ISS III. Авторы обращают внимание на пациентов стандартного и высокого цитогенетического риска. Медиана PFS у пациентов со стандартным риском составила 39 мес. (95 % CI: 25,8–52,2), а при высоком риске 31 мес. (95 % CI: 29,0–33,0), то есть существенных различий не обнаружено [52]. Эти данные подтверждаются результатами израильского регистрационного исследования [47]. В общей сложности в исследовании участвовали 78 пациентов. Шестьдесят четыре процента получили иксазомиб во 2-й линии, 19 % – в 3-й линии, 89 % пациентов ранее получали бортезомиб,

1хa-Rd и иммуномодуляторы; 48 % больных имели высокий цитогенетический риск (t(4:14), t(14:16), del17p) или промежуточный (+1q21). Большинство пациентов получали иксазомиб в сочетании с леналидомидом и дексаметазоном. Согласно опубликованным результатам, не было обнаружено никакого влияния аномалий высокого риска на PFS. Авторы заключают, что комбинации на основе иксазомиба являются эффективными и безопасными режимами у пациентов с РРММ в реальных условиях, независимо от цитогенетического риска, сопоставимыми с данными клинических испытаний.

Таким образом, представленные в этом обзоре результаты клинических исследований и реальной клинической практики подтверждают эффективность и безопасность иксазомиба у пациентов с ММ, которые имеют цитогенетические аномалии высокого риска. Другие ингибиторы протеасомы не оказывают подобного воздействия на высокий цитогенетический риск. Утверждать, что иксазомиб преодолевает высокий риск пока нет оснований, необходимы дальнейшие исследования. Однако врач, выявив цитогенетические аномалии, характерные для высокого риска, должен взвесить все «за» и «против» применения того или иного препарата и принять решение. На наш взгляд, о чем мы уже писали ранее [53], иксазомиб – это тот препарат, который поможет такому пациенту. Длительная терапия больных ММ – длительная выживаемость, вполне удовлетворительное качество жизни. В этой связи необходимо отметить, что карфилзомиб и бортезомиб вводятся парентерально, что может оказать влияние на комплаентность пациентов (причины различные – возраст, семейные обстоятельства, отказ от госпитализации и др.). Одно из преимуществ иксазомиба – пероральная форма. Назначение иксазомиба внутрь позволяет проводить менее частые посещения больницы или поликлинического отделения во время непрерывной/длительной терапии. Кроме того, при использовании карфилзомиба обращается внимание на возможность кардиальных и

почечных нежелательных явлений, а при использовании бортезомиба – периферической нейропатии [54,55], что гораздо реже наблюдается при терапии иксазомибом. Профиль безопасности иксазомиба хорошо зарекомендовал себя как в целом, так и среди больных с цитогенетикой высокого риска.

Заключение

В последние годы был достигнут значительный прогресс в улучшении выживаемости без прогрессирования и качества жизни пациентов с множественной миеломой, в том числе высокого риска. Терапия иксазомибом обратила внимание на отчетливое увеличение медианы выживаемости без прогрессии у пациентов с цитогенетическими аномалиями высокого риска и цитогенетическими нарушениями сверхвысокого риска по сравнению с подгруппами стандартного риска. Иксазомиб в сочетании с Rd или в монорежиме в поддерживающей терапии полностью не преодолевает негативное воздействие цитогенетических аномалий высокого риска на течение ММ. Тем не менее, обращают на себя внимание различия в критериях включения пациентов в четырех основных клинических исследованиях (TOURMALINE-MM1, TOURMALINE-MM2, TOURMALINE-MM3 и TOURMALINE-MM4), что, возможно, усложнило интерпретацию полученных данных. Однако в целом результаты объединенного анализа этих четырех исследований показывают, что терапия на основе иксазомиба является жизнеспособным вариантом лечения пациентов с ММ, которые имеют цитогенетические аномалии высокого риска и сверхвысокого риска. Результаты клинических исследований и реальной клинической практики показывают, что пероральные иксазомиб-содержащие режимы терапии могут обеспечить существенное пролонгирование беспрогрессивной выживаемости пациентов с t(4;14) и amp1q21. Иксазомиб эффективен как в комбинированных схемах, так и в монорежиме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Du J., Zhuang J. Major advances in the treatment of multiple myeloma in American Society of Hematology annual meeting 2020. // *Chronic Dis Transl. - Med.* – 2021. – Vol. 7. – P 220-226.
2. Rajkumar S.V. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. // *Am J Hematol.* – 2020. – Vol. 95. – P. 548-567.
3. Munshi N.C., Avet-Loiseau H. Genomics in multiple myeloma. // *Clin Cancer Res.* – 2011. – Vol. 17, N 6. – P. 1234-1242.
4. Kumar S.K., Callander N.S., Adekola K. et al. Multiple Myeloma, Version 3.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. // *J Natl Compr Canc Netw.* – 2020. – Vol. 18. – P. 1685-1717.
5. Бессмельцев С.С., Карягина Е.В., Стельмашенко Л.В. и др. Бортезомиб (Велкейд) в комбинации с дексаметазоном в лечении рефрактерных/рецидивирующих форм множественной миеломы. Результаты заключительного анализа// *Клиническая Онкогематология.* – 2009. – Т. 2, №3. – С. 236-244.
6. Jimenez-Zepeda V.H., Duggan P., Neri P., Tay J., Bahlis N.J. Bortezomib-containing regimens (BCR) for the treatment of non-transplant eligible multiple myeloma. // *Ann Hematol.* – 2017. – Vol. 96. – P. 431-439.
7. Palumbo A., Gay F., Cavallo F. et al. Continuous therapy versus fixed duration of therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma. // *J Clin Oncol.* – 2015. – Vol. 33. – P. 3459-3466.

8. Jurczyszyn A., Charliński G., Suska A., Vesole D.H. The importance of cytogenetic and molecular aberrations in multiple myeloma. // *Acta Haematol* Vol. – 2021. – Vol. 52. – P. 361–370.
9. Nahi H., Sutlu T., Jansson M. et al. Clinical impact of chromosomal aberrations in multiple myeloma. // *J Intern Med*. – 2010. – Vol. 269, N 2. – P. 137–147.
10. Ross F.M., Chiecchio L., Dagrada G. et al. The t(14;20) is a poor prognostic factor in myeloma but is associated with long term stable disease in MGUS. // *Haematologica*. – 2010. – Vol. 95, N 7. – P. 1221–1225.
11. Sonneveld P., Avet-Loiseau H., Lonial S. et al. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group. // *Blood*. – 2016. – Vol. 127. – P. 2955–2962.
12. Neben K., Jauch A., Bertsch U. et al. Combining information regarding chromosomal aberrations t(4;14) and del(17p13) with the International Staging System classification allows stratification of myeloma patients undergoing autologous stem cell transplantation. // *Haematologica*. – 2010. – Vol. 95, N 7. – P. 1150–1157.
13. Fonseca R., Blood E., Rue M. et al. Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. // *Blood*. – 2003. – Vol. 101, N 11. – P. 4569–4575.
14. Gertz M.A., Lacy M.Q., Dispenzieri A. et al. Clinical implications of t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16.3;q32), and -17p13 in myeloma patients treated with high-dose therapy. // *Blood*. – 2005. – P. 106, N 8. – P. 2837–2840.
15. Moreau P., Attal M., Garban F. et al. Heterogeneity of t(4;14) in multiple myeloma. Long-term follow-up of 100 cases treated with tandem transplantation in IFM99 trials. // *Leukemia*. – 2007. – Vol. 21, N 9. – P. 2020–2024.
16. Avet-Loiseau H., Malard F., Campion L. et al. Intergroupe Francophone du Myélome. Translocation t(14;16) and multiple myeloma: is it really an independent prognostic factor? // *Blood*. – 2011. – Vol. 117, N 6. – P. 2009–2011.
17. Boyd K.D., Ross F.M., Chiecchio L. et al. NCR1 Haematology Oncology Studies Group. A novel prognostic model in myeloma based on co-segregating adverse FISH lesions and the ISS: analysis of patients treated in the MRC Myeloma IX trial. // *Leukemia*. – 2012. – Vol. 26, N 2. – P. 349–355.
18. Narita T., Inagaki A., Kobayashi T. et al. t(14;16)-positive multiple myeloma shows negativity for CD56 expression and unfavorable outcome even in the era of novel drugs. // *Blood Cancer J*. – 2015. – Vol. 5. – P. e285.
19. Pawlyn C., Melchor L., Murison A. et al. Coexistent hyperdiploidy does not abrogate poor prognosis in myeloma with adverse cytogenetics and may precede IGH translocations. // *Blood*. – 2015. – Vol. 125, N 5. – P. 831–840.
20. Morgan G.J., Walker B.A., Davies F.E. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nature Reviews Cancer*. // 2012. – Vol. 12, N 5. – P. 335–348.
21. Hebraud B., Magrangeas F., Cleyne A. et al. Role of additional chromosomal changes in the prognostic value of t(4;14) and del(17p) in multiple myeloma: the IFM experience. // *Blood*. – 2015. – Vol. 125, N 13. – P. 2095–2100.
22. Chiecchio L., Protheroe R.K., Ibrahim A.H. et al. Deletion of chromosome 13 detected by conventional cytogenetics is a critical prognostic factor in myeloma. // *Leukemia*. – 2006. – Vol. 20, N 9. – P. 1610–1617.
23. Avet-Loiseau H., Attal M., Moreau P. et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. // *Blood*. – 2007. – Vol. 109, N 8. – P. 3489–3495.
24. Zhan F., Colla S., Wu X. et al. CKS1B, overexpressed in aggressive disease, regulates multiple myeloma growth and survival through SKP2- and p27Kip1-dependent and -independent mechanisms. // *Blood*. – 2007. – Vol. 109, N 11. – P. 4995–5001.
25. Бессмельцев С.С. Множественная миелома: диагностика и терапия (часть 1). // *Вестник гематологии*. – 2022. – №2. – С. 4–26.
26. Boyd K.D., Ross F.M., Chiecchio L. et al. NCR1 Haematology Oncology Studies Group. A novel prognostic model in myeloma based on co-segregating adverse FISH lesions and the ISS: analysis of patients treated in the MRC Myeloma IX trial. // *Leukemia*. – 2012. – Vol. 26, N 2. – P. 349–355.
27. Sonneveld P., Schmidt-Wolf I.G., van der Holt B. et al. Bortezomib induction and maintenance treatment in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of the randomized phase III HOVON-65/ GMMG-HD4 trial. // *J Clin Oncol*. – 2012. – Vol. 30, N 24. – P. 2946–2955.
28. Neben K., Lokhorst H.M., Jauch A. et al. Administration of bortezomib before and after autologous stem cell transplantation improves outcome in multiple myeloma patients with deletion 17p. // *Blood*. – 2012. – Vol. 119, N 4. – P. 940–948.
29. Rosiñol L., Oriol A., Teruel A.I. et al. Programa para el Estudio y la Terapéutica de las Hemopatías Malignas/Grupo Español de Mieloma (PETHEMA/GEM) group. Superiority of bortezomib, thalidomide, and dexamethasone (VTD) as induction pretransplantation therapy in multiple myeloma: a randomized phase 3 PETHEMA/GEM study. // *Blood*. – 2012. – Vol. 120, N 8. – P. 1589–1596.
30. Cavo M., Tacchetti P., Patriarca F. et al. GIMEMA Italian Myeloma Network. Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomised phase 3 study. // *Lancet*. – 2010. – Vol. 376, N 9758. – P. 2075–2085.
31. Sonneveld P., Goldschmidt H., Rosiñol L. et al. Bortezomib-based versus nonbortezomib-based induction treatment before autologous stem-cell transplantation in patients with previously untreated multiple myeloma: a meta-analysis of phase III randomized, controlled trials. // *J Clin Oncol*. – 2013. – Vol. 31, N 26. – P. 3279–3287.
32. San Miguel J.F., Schlag R., Khuageva N.K. et al. VISTA Trial Investigators. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. // *N Engl J Med*. // 2008. – Vol. 359, N 9. – P. 906–917.
33. Mateos M.V., Gutiérrez N.C., Martín-Ramos M.L. et al. Outcome according to cytogenetic abnormalities and DNA ploidy in myeloma patients receiving short induction with weekly bortezomib followed by maintenance. // *Blood*. – 2011.

- Vol. 118, N 17. - P. 4547-4553.

34. Jakubowiak A.J., Siegel D.S., Martin T. et al. Treatment outcomes in patients with relapsed and refractory multiple myeloma and high-risk cytogenetics receiving single-agent carfilzomib in the PX-171-003-A1 study. // *Leukemia*. - 2013.

- Vol. 27, N 12. - P. 2351-2356.

35. Shah J.J., Stadtmauer E.A., Abonour R. et al. Carfilzomib, pomalidomide, and dexamethasone for relapsed or refractory myeloma. // *Blood*. - 2015. - Vol. 126, N 20. - P. 2284-2290.

36. Hervé Avet-Loiseau, Rafael Fonseca, David Siegel et al. Carfilzomib significantly improves the progression-free survival of high-risk patients in multiple myeloma// *Blood*. - 2016. - 128, N 9. - P. 1174-1180.

37. Moreau P, Masszi T, Grzasko N., Bahlis N.J. et al. Oral ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma. // *N Engl J Med*. - 2016. - Vol. 374. - P. 1621-1634.

38. Richardson P.G., Kumar S.K., Masszi T. et al. Final overall survival analysis of the TOURMALINE-MM1 phase III trial of ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. // *J Clin Oncol*. - 2021. - Vol. 39. - P. 2430-2442.

39. Facon T, Venner C.P., Bahlis N.J. et al. Oral ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone for transplant-ineligible patients with newly diagnosed multiple myeloma. // *Blood*. - 2021. - Vol. 137. - P. 3616-3628.

40. Dimopoulos M.A., Gay F, Schjesvold F. et al. Oral ixazomib maintenance following autologous stem cell transplantation (TOURMALINE-MM3): a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. // *Lancet*. - 2019. - Vol. 393. - P. 253-264.

41. Dimopoulos M.A., Spicka I., Quach H. et al. Ixazomib as postinduction maintenance for patients with newly diagnosed multiple myeloma not undergoing autologous stem cell transplantation: the phase III TOURMALINE- MM4 trial. // *J Clin Oncol*. - 2020. - Vol. 38. - P. 4030-4041.

42. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Multiple Myeloma. Version 4.2022 — December 14, 2021.

43. Goldman-Mazur S., Vesole D.H., Jurczynski A. Clinical implications of cytogenetic and molecular aberrations in multiple myeloma. // *Acta Haematol Pol*. - 2021. - Vol. 52. - P. 18-28.

44. Abdallah N., Rajkumar S.V., Greipp P. et al. Cytogenetic abnormalities in multiple myeloma: association with disease characteristics and treatment response. // *Blood Cancer J*. - 2020. - Vol. 10. - P. 82.

45. Wee-Joo Chng, Sagar Lonial, Gareth J. Morgan et al. A pooled analysis of outcomes according to cytogenetic abnormalities in patients receiving ixazomib- vs placebo-based therapy for multiple myeloma // *Blood Cancer Journal*. - 2023. - Vol. 13. - P. 14; <https://doi.org/10.1038/s41408-022-00768-5>.

46. Li J., Bao L., Xia Z., Wang S. et al. Ixazomib-based frontline therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma in real-life practice showed comparable efficacy and safety profile with those reported in clinical trial: a multicenter study. // *Ann Hematol*. - 2020. - Vol. 99. - P. 2589-2598.

47. Cohen Y.C., Magen H., Lavi N. et al. Ixazomib-based regimens for relapsed/refractory multiple myeloma: are real-world data compatible with clinical trial outcomes? A multisite Israeli registry study. // *Ann Hematol*. - 2020. - Vol. 99. - P. 1273-1281.

48. Avet-Loiseau H., Bahlis N.J., Chng W.J. et al. Ixazomib significantly prolongs progression-free survival in high-risk relapsed/refractory myeloma patients. // *Blood*. - 2017. - Vol. 130. - P. 2610-2618.

49. Szudy-Szczyrek A., Chocholska S., Bachanek-Vitura O. et al. Efficacy of ixazomib-lenalidomide-dexamethasone in high-molecular-risk relapsed/refractory multiple myeloma - case series and literature review// *Ann Agric Environ Med*. - 2022. - Vol. 29, N 1. - P. 103-109.

50. Krishnan A., Prashant Kapoor P., Palmer J.M. et al. Phase I/II trial of the oral regimen ixazomib, pomalidomide, and dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma// *Leukemia*. - 2018. - Vol. 32. - P. 1567-1574.

51. Richardson P.G., San Miguel J.F., Moreau P. et al. Interpreting clinical trial data in multiple myeloma: translating findings to the real-world setting. // *Blood Cancer J*. - Vol. 2018. - Vol. 8. - P. 109.

52. Sokol J., Guman T., Chudej J. et al. Ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone combination in “real-world” clinical practice in patients with relapsed/refractory multiple myeloma// *Annals of Hematology* <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04663-0>.

53. Бессмельцев С.С. Иксазомиб в лечении больных множественной миеломой// *Вестник гематологии*. - 2023. - Т. XIX, № 2. - С.

54. Dimopoulos M.A., Roussou M., Gavriatopoulou M. et al. Cardiac and renal complications of carfilzomib in patients with multiple myeloma.// *Blood Adv*. - 2017. - Vol. 1. - P. 449-454.

55. Бессмельцев С.С., Карягина Е.В., Стельмашенко Л.В. и др. Частота, характеристика и методы лечения периферической нейропатии у больных множественной миеломой, получающих бортезомиб (велкейд)// *Онкогематология*. - 2008. - №3. - С. 52-62.

ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

Резюме

Известно, что проявления постковидного синдрома при сохранении дисбаланса в иммунологических показателях могут наблюдаться в течение 6 и более месяцев после перенесенной инфекции COVID-19. Дальнейшее изучение особенностей состояния иммунной системы в постковидном и поствакцинальном периоде является актуальной проблемой для понимания механизмов иммунной защиты, разработки программ иммунореабилитации при постковидном синдроме, создания новых подходов к разработке программ восстановительного лечения пациентов, перенёсших COVID-19.

Целью настоящего исследования являлась оценка показателей клеточного и гуморального иммунитета в постковидном периоде у лиц, перенесших инфекцию COVID-19.

Материалы и методы. Проведена оценка показателей клеточного и гуморального иммунитета у 126 пациентов (27 мужчин и 99 женщин) без заболеваний системы крови, перенесших инфекцию COVID-19, в возрасте от 25 до 83 лет, в сроки от 1 месяца до 1 года после перенесенного заболевания. Также исследовали уровень специфических анти-

тел к SARS-CoV-2 класса IgG количественным иммуноферментным методом с использованием тест-системы «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (Россия).

Результаты. Получены данные, свидетельствующие о длительном сохранении нарушений функционального состояния иммунной системы в постковидном периоде: повышенное содержание Т-регуляторных клеток (CD4+CD25+), Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации (CD3+HLA-DR+), среднемолекулярных и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов и снижение содержания иммуноглобулина А в сыворотке крови. Отмечено временное усугубление нарушений иммунного ответа у лиц, перенесших COVID-19, в период 3-6 месяцев с момента клинического выздоровления. Кроме того, наблюдались более выраженные иммунные нарушения у лиц старшей возрастной группы. Установлены различия в уровне специфических IgG антител к коронавирусу у перенесших инфекцию COVID-19 пациентов в зависимости от вакцинации.

Ключевые слова. Постковидный синдром, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, антитела к SARS-CoV-2.

Glazanova T.V., Pavlova I.E., Beliaeva E.V., Torshina Yu.S., Shilova E.R.

STATE OF THE IMMUNE SYSTEM IN PATIENTS AFTER A TRANSFER OF COVID-19 INFECTION

Abstract

It is known that manifestations of the post-COVID syndrome, while maintaining an imbalance in immunological parameters, can be observed for 6 or more months after a COVID-19 infection. Further study of the state of the immune system in the post-COVID and post-vaccination period is an urgent problem for understanding the mechanisms of immune defense, developing immunorehabilitation programs for post-COVID syndrome, creating new approaches to developing programs for the rehabilitation treatment of patients who have undergone COVID-19.

The aim of this study was to assess the parameters of cellular and humoral immunity in the post-COVID period.

Materials and methods. The parameters of cellular and humoral immunity were assessed in 126 patients (27 men and 99 women) who had COVID-19 infection, aged 25 to 83 years, within a period of 1 month to 1 year after the disease. The level of specific anti-SARS-CoV-2

IgG antibodies was also investigated by a quantitative enzyme-linked immunosorbent assay using the test system «SARS-CoV-2-IgG-IFA-BEST» (Russia).

Results. Data were obtained indicating a long-term preservation of disturbances in the functional state of the immune system in the post-COVID period: an increased amount of T-regulatory cells (CD4+CD25+), T-lymphocytes with markers of late activation (CD3+HLA-DR+), medium and low molecular weight circulating immune complexes and decrease in the level of immunoglobulin A in the blood serum. Temporary aggravation of immune response disturbances was noted in subjects who undergone COVID-19, in the period of 3-6 months from the moment of clinical recovery. In addition, there were more pronounced changes in the immune system in individuals of the older age group. Differences in the level of specific anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in patients after COVID-19 infection depending on vaccination have been established.

Key words. Post-COVID, cell immunity, humoral

immunity, anti-SARS-CoV-2 antibodies.

Введение. Усовершенствование медицинской помощи больным с новой коронавирусной инфекцией предусматривает внедрение наиболее эффективных методов ранней диагностики и терапии как самого заболевания, так и различных осложнений, влияющих на состояние пациента и прогноз заболевания. Пандемия COVID-19, начавшись в 2019 году и идя на спад в большинстве регионов, все же продолжается до настоящего времени и, по всей видимости, SARS-CoV-2 не исчезнет из человеческой популяции.

Известно, что в течение 6 и более месяцев после перенесенного заболевания могут наблюдаться проявления постковидного синдрома при сохранении дисбаланса в иммунологических показателях [1-3]. Термин “длительный COVID” или “Long-COVID” начал широко использоваться с 2020 года для описания различных симптомов, сохраняющихся, либо проявляющихся через несколько недель или месяцев после заражения SARS-CoV-2, независимо от вирусного статуса. Позже появилось официальное название PASC (post-acute sequelae of COVID-19). Сегодня это уже самостоятельный диагноз, включенный в Международную классификацию болезней МКБ-10 с шифром U09.9 — состояние после COVID-19 (Post-COVID-19 condition). Частота постковидного синдрома точно неизвестна, но большинство исследователей сходятся во мнении, что у каждого пятого человека есть симптомы, которые сохраняются через 5 недель, а у каждого десятого есть симптомы в течение 12 недель или дольше после острой стадии COVID-19 [4,5]. Продолжаться такое состояние может шесть, двенадцать месяцев, а у части наблюдаемых и больше года. Так, встречаются сведения, что более 70% людей, госпитализированных с коронавирусной болезнью, полностью не восстановились и через 12 месяцев после выздоровления при этом отмечалась возможность длительного персистирования вируса в некоторых тканях [6,7]. Если клинические постковидные проявления служат предметом активного изучения в последние годы, то отдаленные последствия воздействия вируса SARS-CoV-2 на иммунную систему еще недостаточно хорошо установлены. При этом длительно поддерживаемая повышенная активность иммунной системы может способствовать развитию аутоиммунных реакций и осложнений.

Большую часть постковидных проявлений в настоящее время связывают не с активностью вируса, а с аутоиммунными реакциями в отношении центральной и автономной нервной системы, сердечно-сосудистой системы и других систем и органов [1]. А длительное сохранение иммунного дисбаланса, по всей видимости, может служить предиктором остаточных поражений [2].

Было показано, что у больных, перенесших коронавирусную инфекцию легкой и тяжелой

степени, отмечаются значительные изменения состава циркулирующих иммунных клеток, которые сохраняются длительное время (не менее 3-9 месяцев после острой фазы заболевания) и сходны с таковыми при аутоиммунных заболеваниях. Во-первых, это увеличение доли провоспалительных Т-хелперов 17 (Th17), циркулирующих в крови в течение длительного времени после заболевания, и снижение противовоспалительных Т-регуляторных клеток (Treg), сопровождающееся изменением баланса Th17/Treg [6], что характерно для широкого спектра аутоиммунных заболеваний [7]. Во-вторых, наблюдался дисбаланс между субпопуляциями Т-фолликулярных хелперных (Tfh) клеток и регуляторных (Tfr) клеток [8], что также отмечается при аутоиммунных проявлениях, связанных с образованием аутоантител [9]. В-третьих, в периферической крови больных COVID-19 обнаружено повышенное количество короткоживущих высокодифференцированных CD8+ Т-лимфоцитов, сохраняющихся длительное время [2, 6], что свидетельствует о продолжающихся процессах дифференцировки и циркуляции этих клеток с выходом из лимфоидной ткани. Эти клетки, по-видимому, больше не связаны с элиминацией SARS-CoV-2 и его антигенов, но могут быть еще одним признаком развития аутоиммунной реакции.

Приводятся экспериментальные доказательства того, что у лиц с бессимптомным течением инфекции SARS-CoV-2 развивается вирусспецифический Т-клеточный ответ. Этот ответ по силе отличим от такового у пациентов с симптомами, но более полноценен функционально, характеризуясь усиленной секрецией Т-хелперами 1 типа (Th1) интерферона γ (ИФН γ) и интерлейкина-2 (ИЛ-2), которая связана с пропорциональной и скоординированной продукцией провоспалительных (ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-1 β) и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов. Обсуждается значение этих результатов для патологии и разработки вакцин [10].

После клинического выздоровления специфические для SARS-CoV-2 Т-клеточные формы ответа могут сохраняться по крайней мере в течение шести месяцев, а имеющиеся данные показывают, что SARS-CoV-2 вызывает широко направленные реакции Т-клеток памяти и это может препятствовать возникновению повторных эпизодов инфекции COVID-19 в дальнейшем [11,12].

Таким образом, дальнейшее изучение особенностей состояния иммунной системы в постковидном и поствакцинальном периоде является актуальной проблемой для понимания механизмов иммунной защиты, разработки программ иммунореабилитации при постковидном синдроме, создания новых подходов к разработке программ восстановительного лечения пациентов, перенесших COVID-19. Расшифровка значимости отдельных звеньев клеточного и гуморального иммунитета являются

важным вопросом при создании эффективных вакцин и методов терапии.

Цель работы. Оценить показатели клеточного и гуморального иммунитета у пациентов с COVID-19 в постковидном периоде,

Материалы и методы. Проведена оценка показателей клеточного и гуморального иммунитета у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в различные сроки, а также сравнительное изучение этих показателей в группах, различающихся по полу и возрасту.

Обследовано 126 человек, перенесших инфекцию COVID-19 (27 мужчин и 99 женщин), в возрасте от 25 до 83 лет (медиана 57 лет), в сроки от 1 месяца до 1 года после перенесенного заболевания. По степени тяжести перенесенной COVID-инфекции пациенты были поделены на следующие группы: I – с легкой формой заболевания (n = 63, медиана возраста 45,1 лет (20 – 67)), II – со среднетяжелой формой (n = 55, медиана возраста 58,2 года (36 – 83)) и III – с тяжелой формой (n = 8, медиана возраста 64,9 (52 – 78)). По срокам обследования с момента клинического выздоровления в рамках общей группы были выделены следующие группы: со сроком менее 3 месяцев (n = 76), от 3 до 6 месяцев (n = 34) и более 6 месяцев (n = 16). Контрольную группу составили 52 здоровых донора крови.

Методом проточной цитометрии определяли субпопуляции лимфоцитов, экспрессирующих молекулы CD3, CD4, CD8, CD16, CD25, HLA-DR, CD19,

активированных Т-клеток и Т-регуляторных клеток (Treg). Уровень общих сывороточных иммуноглобулинов классов G, A и M определяли методом турбидиметрии, а циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) низкой (ЦИКнизк) и средней (ЦИКсредн) молекулярной массы – методом измерения оптической плотности. Содержание в сыворотке цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО-α, а также специфических антител к SARS-CoV-2 класса IgG определяли количественным иммуноферментным методом с использованием тест-системы «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (Россия).

Результаты. Сравнение показателей клеточного иммунитета в группах пациентов, выделенных в зависимости от степени тяжести заболевания, с показателями в группе контроля (доноры), показало достоверное увеличение относительного содержания Т-лимфоцитов (CD3+) в группе с легкой формой заболевания – 74,4 % и 68,6 % соответственно (p <0,001), Treg (CD25+CD4+) – 3,4 % и 1,9 % соответственно (p <0,05), и снижение содержания В-лимфоцитов (CD19+) – 10,02 % и 13,9 % соответственно (p <0,001) (таблица 1). В группах со среднетяжелым и тяжелым течением повышенные содержания Treg носило еще более выраженный характер, а также наблюдалось увеличение относительного содержания клеток с фенотипом CD3+DR+, соответствующим поздней активации Т-лимфоцитов – 7,7 % и 15,7 % соответственно против 3,9 % в группе доноров.

Таблица 1

Показатели клеточного иммунитета у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести заболевания

	CD3+ (%)	CD3+ CD4+ (%)	CD3+ CD8+ (%)	CD3+ DR+ (%)	CD16+ (%)	CD19+ (%)	CD25+ CD4+ (%)	CD3+ CD16+ (%)
Легкая форма n = 63 (I)	74,4 ± 1,2	45,4 ± 1,2	26,3 ± 1,1	4,2 ± 0,2	12,5 ± 0,8	10,2 ± 0,7	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,3
Среднетяжелая форма n = 55 (II)	69,7 ± 1,7	45,7 ± 1,6	23,1 ± 1,4	7,7 ± 0,4	12,9 ± 1,0	13,3 ± 1,2	4,0 ± 0,2	3,5 ± 0,4
Тяжелая форма n = 8 (III)	69,5 ± 4,5	43,8 ± 4,0	23,6 ± 3,9	15,7 ± 2,5	13,3 ± 1,6	13,3 ± 2,8	4,3 ± 0,8	2,3 ± 0,5
Доноры n = 52 (IV)	68,6 ± 1,1	42,6 ± 1,1	24,0 ± 0,9	3,9 ± 0,2	12,4 ± 1,0	13,9 ± 0,9	1,9 ± 0,2	4,6 ± 0,5
p I-IV	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,01	>0,05
p II-IV	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	>0,05	>0,05	<0,001	>0,05
p III-IV	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	>0,05	>0,05	<0,001	>0,05

В таблице 2 представлены результаты определения показателей гуморального иммунитета у лиц,

перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести заболевания.

Показатели гуморального иммунитета у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести заболевания

	IgG (г/л)	IgA (г/л)	IgM (г/л)	ЦИКсредн (усл.ед.)	ЦИКнизк (усл.ед.)
Легкая форма n = 63 (I)	10,1 ± 0,4	2,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	53,9 ± 3,1	331,1 ± 12,7
Среднетяжелая форма n = 55 (II)	10,1 ± 0,4	2,6 ± 0,3	1,3 ± 0,1	61,8 ± 3,8	362,8 ± 18,0
Тяжелая форма n = 8 (III)	10,1 ± 0,5	2,0 ± 0,4	1,3 ± 0,3	63,6 ± 7,0	325,4 ± 22,5
Доноры n = 52 (IV)	10,3 ± 0,2	2,8 ± 0,1	1,5 ± 0,1	34,1 ± 3,6	122,5 ± 11,9
p I-IV	>0,05	<0,01	>0,05	<0,001	<0,001
p II-IV	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001
p III-IV	>0,05	<0,05	>0,05	<0,001	<0,001

Согласно полученным данным, наблюдалось снижение концентрации в сыворотке иммуноглобулина А, статистически достоверное в группах с легким течением, тяжелым течением относительно нормальных значений – 2,3 г/л, 2,0 г/л и 1,5 г/л. Во всех группах пациентов отмечено достоверное ($p < 0,001$) и значительное увеличение содержания циркулирующих иммунных комплексов по сравнению с группой контроля, в особенности – малого размера (низкомолекулярных). Уровень ЦИКсредн. был повышен в 1,56, 1,78 и 1,82 раза в группах I, II и III соответственно, а уровень ЦИКнизк – в 2,67, 2,85 и 2,57 раза в группах I, II и III соответственно. Иммуноглобулин класса А играет роль в развитии инфекционно-воспалительных, в том числе аутоиммунных реакций, так же, как и ЦИКнизк, и их изменения могут свидетельствовать о риске развития аутоиммунных процессов у лиц, перенесших COVID-19.

Также нами проведено сравнение показателей клеточного и гуморального иммунитета у пациентов, перенесших COVID, при выделении групп по гендерному признаку: мужчин ($n = 27$, средний возраст $52,2 \pm 2,2$ года) и женщин ($n = 99$, средний возраст $52,4 \pm 1,3$ года). Результаты не показали значимых различий, за исключением уровня ЦИК,

в большей степени повышенного у лиц женского пола: ЦИКсредн $54,1 \pm 4,0$ усл.ед. против $58,5 \pm 2,6$ усл.ед. ($p > 0,05$) и ЦИКнизк $299,9 \pm 18,1$ усл.ед. против $357 \pm 11,3$ ($p < 0,05$) в группах мужчин и женщин, соответственно.

При делении по группам в зависимости от возраста оказалось, что у пациентов в группе до 60 лет (в среднем – 45 лет) преобладала легкая форма заболевания (49 человек, 55 %), тогда как с тяжелой формой было всего 4 (4,5 %) человека. В то же время, среди пациентов в возрасте 60 лет и старше (в среднем 68,2 лет) легкое течение заболевания наблюдалось у 7 (21 %) и тяжелое – у 3 (8 %) человек.

Выделение групп пациентов, перенесших COVID, по возрасту не продемонстрировало значимых различий в показателях клеточного иммунитета, имелась лишь тенденция к повышению относительного содержания активированных клеток (CD3+DR+), Трег и натуральных киллеров (НК-клеток, CD16+) в группе пациентов 60 лет и старше.

Среди показателей гуморального иммунитета обращало на себя внимание более выраженное в старшей возрастной группе снижение уровня IgA и повышение уровня как среднемолекулярных, так и низкомолекулярных ЦИК (таблица 3).

Таблица 3

Показатели гуморального иммунитета у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от возраста

	IgG (г/л)	IgA (г/л)	IgM (г/л)	ЦИКсредн (усл.ед.)	ЦИКнизк (усл.ед.)
< 60 лет (n = 89)	10,1 ± 0,3	2,5 ± 0,1	1,3 ± 0,1	53,2 ± 2,4	328,3 ± 10,9
≥60 лет (n = 33)	9,7 ± 0,6	2,0 ± 0,1	1,3 ± 0,2	70,8 ± 5,3	391,5 ± 24,5
p	>0,05	<0,05	>0,05	<0,01	<0,01

По срокам обследования с момента клинического выздоровления в рамках общей группы были выделены следующие подгруппы: со сроком менее 3 месяцев (n=76), от 3 до 6 месяцев (n=34) и более 6 месяцев (n=16). Результаты сравнения этих подгрупп пациентов, не показали значимых различий средних величин изученных показателей. Однако обращал на себя внимание тот факт, что в срок 3-6 месяцев отмечалась тенденция к усугублению отклонений показателей, выявлявшихся на ранних сроках, с последующей тенденцией к их нормализации после указанного временного интервала, то есть, срок от 3 до 6 месяцев являлся «переломным» в отношении показателей иммунитета в постковидном периоде.

Результаты определения в сыворотке крови уровня таких цитокинов, как ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНОα, проведенного как в раннем постковидном периоде (в первые 1-2 месяца), так и в более поздние сроки, не показали достоверного увеличения ни одного из изученных показателей относительно референтных значений нормы. Это согласуется и с данными литературы об отсутствии повышенного содержания цитокинов в отдаленные сроки после перенесенной инфекции [13]. Напротив, у лиц, перенесших COVID-19, отмечались более низкие средние показатели уровня ИЛ-1β, ИЛ-6 и ИЛ-10 по сравнению с нормой. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4

Содержание ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНОα у лиц, перенесших инфекцию COVID-19

Группа	Показатель	ИЛ-6 пг/мл	ФНОα пг/мл	ИЛ-1β пг/мл	ИЛ-10 пг/мл
Лица, перенесшие COVID-19 (n = 78)	Среднее значение Разброс показателей	1,64 (0 – 12,8)	0,83 (0 – 7,7)	0,61 (0 – 9,1)	2,07 (0 – 15,6)
Норма (n = 68)	Среднее значение Разброс показателей	2,0 (0– 10)	0,5 (0– 6)	1,6 (0– 11)	5,0 (0– 31)

Отмечены отдельные пациенты (в возрасте от 39 до 78 лет) с умеренным повышением уровня провоспалительных цитокинов в сроки от 1 до 4,5 месяцев после перенесенной инфекции: у троих наблюдалось повышение ФНОα и у двух – ИЛ-6. Среди клинико-лабораторных особенностей у пациентов данной подгруппы можно отметить параллельное снижение уровня IgG и, напротив, близкие к нормальным уровни ЦИК, что в целом было не характерно для общей группы обследованных в постковидном периоде пациентов.

Наряду с перечисленными показателями нами проводилось определение уровня антител класса IgG к вирусу SARS-CoV-2 у 84 человек, перенесших COVID без предшествовавшей вакцинации, и у 34 предварительно вакцинированных лиц. При оценке результатов ориентировались на предложенные ВОЗ единицы BAU/мл (Binding Antibody Units, или коэффициент связывающих антител) с оценкой результатов по следующим параметрам: 0-10 – результат отрицательный; 11-79 = малое количество

АТ; 80-149,9 – промежуточный результат (условно «среднее количество АТ»); 150-499 – результат положительный; 500 и более – «гиперпродукция».

В силу некоторой условности такого деления мы посчитали необходимым выделить среди не вакцинированных и вакцинированных пациентов три подгруппы: 1 – лица, у которых получен отрицательный результат, либо обнаружено мало антител (от 0 до 79 BAU/мл); 2 – пациенты со «средним» уровнем антител (от 80 до 149,9 BAU/мл); и 3 – пациенты с «адекватной» реакцией или гиперпродукцией антител (≥ 150 BAU/мл).

Результаты определения антител к коронавирусу показали, что в группе вакцинированных доля адекватно и сильно отреагировавших выработкой антител лиц (подгруппа 3) выше на 15 % по сравнению с не вакцинированными и составляет 85 % и 70 % соответственно, а доля лиц с низкой (0-79 BAU/мл) продукцией специфических IgG ниже – 9 % и 17% (подгруппа 1) соответственно (таблица 5).

Таблица 5

Различия в уровне специфических IgG антител к коронавирусу у перенесших COVID в зависимости от вакцинации

В том числе:	Не вакцинированные, n = 84		Вакцинированные, n = 34	
	n	(%)	n	(%)
1 – отрицательный результат + мало антител	16	17	3	9
2 – «средний» уровень антител	9	11	2	6
3 – «адекватная» реакция + гиперпродукция антител	59	70	29	85

При этом в анализируемых группах имеются значимые различия в степени тяжести перенесенной COVID-инфекции. Если в группе не вакцинированных лиц доля пациентов с легким течением заболевания составила 43 %, средним – 49 % и у 8 % больных течение было тяжелым, то в группе вакцинированных тяжелого течения не наблюдалось, а легкие формы COVID отмечены у 68 % больных.

Обсуждение. Изучение особенностей состояния иммунной системы в постковидном и поствакцинальном периоде и расшифровка значимости отдельных звеньев клеточного и гуморального иммунитета является актуальной проблемой для понимания механизмов иммунной защиты, разработки программ иммунореабилитации при постковидном синдроме, создания новых подходов к формированию восстановительного лечения пациентов, перенесших COVID-19. Нами была проведена оценка показателей клеточного и гуморального иммунитета в постковидном периоде у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в различные сроки, а также сравнительное изучение этих показателей в группах, различающихся по степени тяжести, полу и возрасту.

В ряде исследований было продемонстрировано, что в течение 6 и более месяцев после перенесенного заболевания могут наблюдаться проявления постковидного синдрома при сохранении дисбаланса в иммунологических показателях [1-3]. Так, у пациентов с острым COVID-19 в циркуляции обнаружено снижение практически всех основных субпопуляций «наивных» В-клеток и В-клеток памяти, при увеличении доли эффекторных клеток — циркулирующих предшественников плазматических клеток с фенотипом CD27^{hi}CD38^{hi}CD24⁻, а также функционально неактивных CD21^{low} В-лимфоцитов. Анализ данных литературы указывает на наличие существенных нарушений в функционировании всех основных субпопуляций Th и их клеток-мишеней в острую фазу COVID-19, которые могут сохраняться после элиминации патогена и являться одной из причин проявления «постковидных» нарушений [1]. Нами обнаружено повышение содержания Т-регуляторных клеток (CD4⁺CD25⁺) и Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации (CD3⁺HLA-DR⁺) в постковидном периоде, наиболее выраженное в группах со среднетяжелым и тяжелым течением, а в группе с легким течением наблюдалось повышение относительного содержания общей популяции Т-лимфоцитов (CD3⁺) и снижение – В-лимфоцитов (CD19⁺). При этом в сыворотке крови лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в период от одного и более месяцев после выздоровления не было выявлено повышения провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, и ФНО α) и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов. Возможно, полученные данные объясняются некоторым истощением резервов иммунной системы, наступившим

в постковидном периоде, тем более это последующее «истощение» может носить более выраженный характер при тяжелом течении инфекции.

Наши результаты подтверждаются и данными литературы, так как было показано, что инфекция COVID-19 приводит к истощению эффекторных Т-клеток, что отрицательно сказывается на их противовирусной защите от SARS-CoV-2, а функциональное истощение цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ) коррелирует с прогрессированием заболевания [14,15]. Эта утрата функции эффекторных Т-клеток происходит либо благодаря повышенной экспрессии ингибирующих рецепторов на поверхности Т-клеток из-за активности цитокинов, либо из-за снижения количества регуляторных Т-клеток.

Кроме того, группой исследователей было показано, что среди реконвалесцентов, перенесших среднетяжелую форму COVID-19, на 30-е и 60-е сутки после клинического выздоровления наблюдалось достоверное увеличение доли трансформированных форм эритроцитов и, независимо от тяжести течения болезни, умеренное нарушение морфологии нейтрофильных гранулоцитов с участками нейтрофил-тромбоцитарной агрегации [13]. По-видимому, выявленные морфофункциональные изменения клеток крови у лиц, перенесших COVID-19, свидетельствуют о длительности сохранения токсических повреждений эритроцитов, нейтрофилов и лимфоцитов в течение восстановительного периода. Авторами также показано достоверное снижение в сыворотке крови уровня таких регуляторных цитокинов, как IFN γ , TNF α , IL-10 и IL-17A, что подтверждает медленное восстановление лимфоцитарного звена (Th1, Th2, Th17) иммунной системы.

Также нами установлено значительное повышение уровня среднемолекулярных и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов при сниженном содержании иммуноглобулина А в сыворотке. Указанные изменения наиболее выражены в группах со среднетяжелым и тяжелым течением перенесенной инфекции COVID-19. Снижение уровня сывороточного иммуноглобулина А часто обнаруживают при аутоиммунных заболеваниях, в частности, системой красной волчанке, миастении, ревматоидном артрите, сахарном диабете 1 типа, а также как следствие инфекционных заболеваний, в том числе, вирусной природы. Среди механизмов, ведущих к его снижению, обсуждаются нарушение функциональной активности Т-хелперов, снижение экспрессии рецептора CD40 на В-лимфоцитах, избыточная активность регуляторных Т-клеток, низкий уровень ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-10 и ИЛ-21 [16]. Также известно, что для аутоиммунных и инфекционных заболеваний характерно увеличение содержания циркулирующих иммунных комплексов.

Изучение динамики иммунологических показателей в различные сроки от момента выздоровле-

ния показало, что при значительном разбросе индивидуальных показателей имелись определенные тенденции, более отчетливо прослеживаемые, при оценке динамики средних показателей, и для всех изученных параметров срок от 3 до 6 мес. являлся «переломным» с дальнейшей нормализацией одних показателей и временным усугублением изменений других. По-видимому, этот период требует особого внимания при планировании реабилитационных мероприятий для лиц, перенесших COVID-19.

Изучение зависимости показателей клеточного иммунитета у пациентов, перенесших COVID, от возраста не продемонстрировало значимых различий, имелась лишь тенденция к повышению относительного содержания активированных клеток (CD3+DR+), Treg и натуральных киллеров (НК-клеток, CD16+) в группе пациентов 60 лет и старше. Среди показателей гуморального иммунитета в старшей возрастной группе наблюдалось более выраженное снижение уровня IgA и повышение уровня как среднемолекулярных, так и низкомолекулярных ЦИК.

Пожилой возраст является признанным фактором риска не только при COVID-19, но и при других вирусных инфекциях, включая MERS-CoV и SARS [17,18]. Известно, что по мере старения эффективность иммунной системы снижается и это может влиять на динамику течения и исходы вирусной инфекции. У пожилых пациентов может наблюдаться лимфопения, снижение содержания регуляторной популяции Т-клеток (Treg), уменьшение функциональной активности иммунокомпетентных клеток. Имеются данные о том, что старение влияет на CD4+ Т-клетки, CD8+ Т-клетки, функцию В-клеток, снижение клонального разнообразия Т- и В-клеток приводит к нарушению ответа на вирусные инфекции [19].

Известно, что у большинства вакцинированных лиц уровень антител со временем снижается [20]. Относительно скорости снижения уровня антител после перенесенного COVID-19 существует много исследований, однако данные существенно различаются. Так, есть работы, в которых показано, что специфические IgG-антитела сохраняются на прежнем уровне через 3 месяца, через 5–6 месяцев и даже через 9–12 месяцев у определенной группы пере-

болевших сохраняются достаточно высокие уровни антител [21]. Среди обследованных нами пациентов в группе с высоким уровнем антител были как лица, обследованные в раннем периоде (первые 3 мес.), так и в позднем, до года. По-видимому, это можно расценивать как свидетельство того, что поствакцинальный уровень антител зависит также и от индивидуальной реактивности иммунной системы.

Заключение. Таким образом, в результате оценки показателей клеточного и гуморального иммунитета у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в различные сроки, а также сравнительного изучения этих показателей в группах, различающихся по полу и возрасту, нами получены данные, свидетельствующие о длительном сохранении нарушений функционального состояния иммунной системы в постковидном периоде. В качестве наиболее важных определены следующие критерии: содержание Т-регуляторных клеток (CD4+CD25+), Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации (CD3+HLA-DR+), среднемолекулярных и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов и иммуноглобулина А в сыворотке крови. Отмечено временное усугубление нарушений иммунного ответа у лиц, перенесших COVID-19, в период 3-6 месяцев с момента клинического выздоровления, а также у лиц старшей возрастной группы. Установлены различия в уровне специфических IgG антител к коронавирусу у перенесших COVID пациентов в зависимости от вакцинации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Вклад авторов

Концепция и дизайн: все авторы

Сбор и обработка данных: все авторы

Предоставление материалов исследования: все авторы

Анализ и интерпретация: все авторы

Подготовка рукописи: все авторы

Окончательное одобрение рукописи: все авторы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Тотолян А.А. Т-хелперы и их клетки-мишени при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. – 2022. – Т. 12, № 3. – С. 409–426.
2. Wu J., Tang L., Ma Y. et al. Immunological Profiling of COVID-19 Patients with Pulmonary Sequelae // mBio. – 2021. – Vol. 12, N 5. – e0159921.
3. Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A. et al. Post-acute COVID-19 syndrome // Nat. Med. – 2021. – Vol. 27. – P. 601–615.
4. Baig A.M. Chronic COVID syndrome: need for an appropriate medical terminology for long-COVID and COVID long-haulers // J Med Virol. – 2021. – Vol. 93, N 5. – P.2555-2556.
5. Sudre C.H., Murray B., Varsavsky T. et al. Attributes and predictors of long COVID // Nature medicine. – 2021. – Vol. 27, N 4. – P. 626–631.
6. Orologas-Stavrou N., Politou M., Rousakis P. et al. Peripheral blood immune profiling of convalescent plasma donors

- reveals alterations in specific immune subpopulations even at 2 months post sars-cov-2 infection // *Viruses*. – 2021. – Vol.13. – P. 26.
7. Knochelmann H., Dwyer C., Bailey S. et al. When worlds collide: Th17 and Treg cells in cancer and autoimmunity // *Cell. Mol. Immunol.* – 2018. – Vol. 15, N 5. – P. 458-469.
 8. Gong F., Dai Y., Zheng T. et al. Peripheral CD4+ T cell subsets and antibody response in COVID-19 convalescent individuals // *J. Clin. Investig.* – 2020. – Vol. 130. – P. 6588–6599.
 9. Kurata I., Matsumoto I., Sumida T. T follicular helper cell subsets: A potential key player in autoimmunity // *Immunol. Med.* – 2021. – Vol. 44. – P. 1–9.
 10. Le Bert N., Clapham H., Tan A. et al. Highly functional virus-specific cellular immune response in asymptomatic SARS-CoV-2 infection // *J. Exp. Med.* – 2021. – Vol. 218, N 5. – e20202617.
 11. Zhao B., Zhong M., Yang Q. et al. Alterations in phenotypes and responses of t cells within 6 months of recovery from COVID-19: A Cohort Study // *Virology*. – 2021. – Vol. 36, N 5. – P. 859-868.
 12. Sekine T., Perez-Potti A., Rivera-Ballesteros O. et al. Robust T cell Immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19 // *Cell*. – 2020. – Vol. 183, N 1. – P. 158-168.
 13. Ключева С.Н., Кравцов А.Л., Бугоркова С.А. Морфофункциональная характеристика клеток крови у реконвалесцентов после перенесенного COVID-19 // *Медицинская иммунология*. – 2022. – Т. 24, № 4. – С. 741-750
 14. Zheng H.Y., Zhang M., Yang C.X., et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients // *Cell Mol Immunol.* – 2020. – Vol. 17, N 5. – P. 541-543. doi:10.1038/s41423-020-0401-3
 15. Diao B., Wang C., Tan Y. et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Front Immunol* 2020;11:827 doi:10.3389/fimmu.2020.00827
 16. Москалец О.В. Иммуноглобулин А и его селективный дефицит // *Казанский медицинский журнал*. – 2017. – Т. 98, №5. – С. 809-813
 17. Hong K-H., Choi J-P, Hong S-H. Et al. Predictors of mortality in Middle East respiratory syndrome (MERS) // *Thorax* – 2018. – Vol. 73, N 3. – P. 286–289. DOI:10.1136/thoraxjnl-2016-209313
 18. Dessie Z.G., Zewotir T. Mortality-related risk factors of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of 42 studies and 423,117 patients // *BMC Infect Dis.* – 2021. – Vol. 21. – P. 855. DOI:10.1186/s12879-021-06536-3
 19. Yoneyama M., Kikuchi M., Natsukawa T. et al. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses // *Nat. Immunol.* – 2004. – Vol. 5, N 7. – P. 730–737. DOI: 10.1038/ni1087.
 20. Григорук С.Д., Липская О.В., Винокурова Т.Ю., Кедрова В.С., Погосова Т.Э. Оценка поствакцинального иммунитета к новой коронавирусной инфекции SARS-COV-2 у работников нефтегазовой отрасли // *Здравоохранение Югры: опыт и инновации*. – 2022. – №1. – С. 33-37
 21. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Закиров Р.Ш., Афридонова З.Э. Сопоставление гуморального и клеточного иммунитета у переболевших COVID-19 // *Инфекция и иммунитет*. – 2022. – Т. 12, № 3. – С. 495–504.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАБОТЫ СИСТЕМЫ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ ПРИ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИОННОМ СИНДРОМЕ У ПАЦИЕНТОВ С ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ НОЧНОЙ ГЕМОГЛОБИНУРИЕЙ

Резюме

Осложнения, наблюдающиеся у пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией (ПНГ), связаны, в первую очередь, с высокой частотой тромботических событий (ТС), которые могут заканчиваться летальным исходом. Учитывая это, представляется важным оценка изменений в системе гемостаза у данной категории больных. Было обследовано 6 пациентов с ПНГ, у которых определялись коагулологические тесты и показатели есте-

ственных антикоагулянтов. У всех обследованных пациентов с ПНГ выявлялись гиперкоагуляционные изменения системы гемостаза, обусловленные высоким уровнем активности фактора VIII, D-димера и эндогенного потенциала тромбина наряду с низкой эффективностью работы антикоагулянтной системы протеина С.

Ключевые слова: пароксизмальная ночная гемоглобинурия, тромбоз, гиперкоагуляция, антикоагулянтная система, тест генерации тромбина.

Kobilianskaya V.A., Matvienko O.Yu., Shilova E.R., Silina N.N., Bessmeltsev S.S.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology

THE EFFECTIVENESS OF THE SYSTEM OF NATURAL ANTICOAGULANTS IN HYPERCOAGULATION SYNDROME IN PATIENTS WITH PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA

Abstract

Complications observed in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) are associated primarily with a high frequency of thrombotic events (TC), which can be fatal. Given this, it seems important to assess changes in the hemostasis system in this category of patients. 6 patients with PNH were examined, in whom coagulation tests and indicators of natural anticoagulants were determined. All examined

patients with PNH showed hypercoagulable changes in the hemostasis system due to high levels of factor VIII activity, D-dimer, and endogenous thrombin potential, along with low efficiency of the protein C anticoagulant system.

Key words: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, thrombosis, hypercoagulability, anticoagulant system, thrombin generation test.

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ, болезнь Маркиафава-Микели) — редкое, приобретенное заболевание гемопоэтических стволовых клеток, характеризующееся недостаточностью костного мозга, гемолитической анемией и высокой частотой жизнеугрожающих тромботических событий. По данным эпидемиологических исследований распространенность ПНГ составляет около 13-16 случаев на 1 млн. населения [1]. Опираясь на эти результаты, можно предположить, что российская когорта пациентов с данной патологией составляет около 2300 человек [2]. Наряду с самостоятельным заболеванием, ПНГ-клон различной величины встречается также у определенной части больных апластической анемией (АА – до 70% больных) и миелодиспластическим синдромом (МДС – 10-15%), реже при других онкогематологических

заболеваниях [3-6]. Драматические симптомы, которые дали этому заболеванию название, и уникальная природа лежащей в основе соматической мутации сделали ПНГ на многие годы предметом повышенного интереса среди гематологов различных стран [7-10]. Эритроциты у пациентов с ПНГ имеют дефект в биосинтезе сложной молекулы гликозил-фосфатидил-инозитола (GPI). Результатом нарушения является формирование и экспансия одного или нескольких ПНГ-клонов со сниженным или полным отсутствием мембранных гликозил-фосфатидил-инозитольных гликопротеинов (GP), которые служат якорем для многих поверхностных белков. Наиболее значимыми якорными белками являются CD59 (Protectin; MAC-inhibitor), который формирует защитный барьер эритроцитов от лизиса при активации системы комплемента и предот-

вращает образование мембраноатакующего комплекса (МАК), и CD55 (DAF-decay-accelerating factor), предотвращающий формирование конвертаз C3, что тормозит каскад реакций комплемента. Дефицит CD59 в эритроцитах приводит к хроническому гемолизу, вследствие чего из эритроцитов в плазму выделяется свободный гемоглобин, активно связывающийся с оксидом азота. Происходит уменьшение последнего в тканях и в результате возникают слабость, одышка, периодическая боль в животе, дисфагия, боль в груди и легочная гипертензия [9-12]. Пациенты с такими клиническими проявлениями имеют высокий риск развития тромботических событий (ТС). Исследованиями последних лет показано, что риск развития тромбоза у пациентов с ПНГ в 62 раза превышает риск в общей популяции и связан с 7-кратным увеличением риска смерти (Nishimura, 2004; Brodsky, 2010). Первый тромботический эпизод увеличивает риск летального исхода в 5–10 раз и может стать фатальным [2,3,13]. Причем, ТС могут иметь место и при небольшом размере ПНГ-клона, минимальном гемолизе, анемии любой степени тяжести [6,14,15]. Тромбозы при данном заболевании обусловлены сложным патофизиологическим механизмом, включающим в себя наряду с неконтролируемой активацией комплемента и внутрисосудистым гемолизом, лизис эритроцитов и тромбоцитов, нарушение фибринолиза, сосудистое воспаление и эндотелиальную дисфункцию [8,10,16,17]. Учитывая то, что ПНГ является протромботическим состоянием, представляется важным выявление гиперкоагуляционных изменений в системе гемостаза, и оценка эффективности работы естественных антикоагулянтов, что и послужило целью данного исследования.

Материалы и методы. В ходе настоящей работы было обследовано 6 пациентов (3 женщины и 3 мужчин) в возрасте от 29 до 50 лет. На момент проведения исследований у всех пациентов диагностирована ПНГ, в том числе у 2 пациенток как трансформация из апластической анемии с полной ремиссией после комбинированной иммуносупрессивной терапии. Диагноз классической гемолитической ПНГ установлен исходно у 4 пациентов. Длительность заболевания от момента установки диагноза до начала проводимых нами исследований системы гемостаза колебалась от 3 месяцев до 20 лет. Размер ПНГ-клона, определенный по гранулоцитам, у 4 больных превышал 90%, у одной пациентки колебался в пределах 80-90% и одной – 50-60%. На период обследования тромботических эпизодов не наблюдалось. Концентрация уровня гемоглобина пациентов составляла от 100 до 119 г/л. Всем пациентам определяли индекс активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбиновый тест по Квику (ПТ), концентрацию фибриногена по Клауссу (ФГ), активность фактора VIII (ф.VIII), уровень D-димера, активность анти-

тромбина (АТ) и протеина С (РС), а также уровень свободного протеина S (PS). Вышеперечисленные исследования проводили на автоматических коагулометрах серии ACL (Instrumentation Laboratory, США) с использованием реактивов HemosIL согласно рекомендациям производителя. Тест генерации тромбина выполняли методом калиброванной автоматизированной тромбинографии согласно методике, предложенной Hemker H., на планшетном флуориметре Fluoroskan (ThermoFisherScientific, Финляндия) с использованием реактива, содержащего тканевой фактор в конечной концентрации 5 пМ. Исследование проводили в бедной тромбоцитами плазме без добавления тромбомодулина (ТМ-) и с добавлением такового (ТМ+). Добавление в реакционную смесь тромбомодулина позволяет определить чувствительность к тромбомодулину, которая характеризует эффективность работы антикоагулянтной системы протеина С. С помощью прилагаемого программного обеспечения оценивали значения ЕТР (эндогенный тромбиновый потенциал, нМоль×мин), Peak thrombin (пиковое количество тромбина, нМоль). Чувствительность к тромбомодулину рассчитывали, как процент (%) падения ЕТР и Peak thrombin после добавления тромбомодулина. В качестве контроля использовали образцы плазмы крови практически здоровых лиц.

Для статистической обработки использовали пакет STATISTICA 12, определяли медиану и межквартильный интервал Me: (Q₁ – Q₃). Для сравнения показателей использовали критерий Манна-Уитни, различия считали достоверными при p < 0,005.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов, полученных при исследовании системы гемостаза всей группы больных, выявил нормальные показатели скрининговых тестов: ПТ и ФГ (таблица 1). На этом фоне отмечалось значимое повышение маркеров гиперкоагуляционного состояния – активности фактора VIII и уровня D-димера. Большое значение в обеспечении гемостатического баланса принадлежит состоянию естественных антикоагулянтов, среди которых наиболее значима эффективность антитромбина и белков системы протеина С. Из ожидаемых повышений значений антикоагулянтной системы лишь уровень антитромбина был достоверно увеличен, что можно рассматривать как компенсаторную реакцию антикоагулянтной системы. Активность протеина С и уровень протеина S оставались в пределах нормальных значений, что также можно рассматривать как проявление гиперкоагуляции.

Параметры коагуляционных показателей и естественных антикоагулянтов у пациентов с ПНГ и здоровых лиц

Me: (Q₁ – Q₃).

Показатели	Пациенты (n=6)	Здоровые лица (n=20)	p
Индекс АПТВ	0,91 (0,89-0,93)	1,03 (0,99-1,07)	0,0004
ПТ, (%)	99,0 (94,2-107,2)	93,4 (91,2-105,4)	0,442
ФГ, (г/л)	2,82 (2,4-2,98)	2,7 (2,5-2,9)	0,949
Активность ф. VIII (%)	210,5(205,2-242,7)	104 (95,0-130)	0,000002
D-димер, (нг/мл)	447,5 (372,5-517,2)	54 (48-85)	0,000074
АТ, (%)	99,5 (91,7-108)	94 (81-105)	0,007
РС, (%)	93,5 (81,2-98,75)	102 (89-114)	0,181
PS, (%)	97,5 (95,5-106,2)	102 (86-106)	0,977

Примечание: p – различия между пациентами и здоровыми лицами.

Интересные данные получены при определении показателей теста генерации тромбина (таблица 2). Как видно из результатов, представленных в табли-

це 2, практически все параметры генерации тромбина у пациентов с ПНГ демонстрировали достоверные различия с показателями здоровых лиц.

Таблица 2

Показатели генерации тромбина пациентов с ПНГ и здоровых лиц

ME: (Q₁ – Q₃).

Показатели	Пациенты (n=6)	Здоровые лица (n=20)	P
ETP (TM-), нМ х мин.	1257,5 (1199-1551)	1642 (1489-1777)	0,04
Peak thrombin (TM-), нМ	168,5 (164,2-181,0)	285 (265-311)	0,005
ETP (TM+), нМ х мин.	808,5 (712,7-984,5)	872 (533-1390)	0,977
Peak thrombin (TM+), нМ	142 (139-153)	173 (155-207)	0,005
Процент падения ETP, %	32,9 (29,5-35,72)	59,9 (147,8-57,7)	0,000007
Процент падения Peak, %	14,5 (12,5-16,35)	42,1 (36,2-47,0)	0,000007

Примечание: p – различия между пациентами и здоровыми лицами.

Так, эндогенный тромбиновый потенциал был значимо выше у больных ПНГ, как в постановке без добавления ТМ, так и в его присутствии. Пиковое количество тромбина не достигало референтных значений в отсутствие ТМ и имело тенденцию к увеличению относительно нормальных значений при выполнении теста с добавлением ТМ. При этом обращает на себя внимание резкое падение чувствительности к ТМ у обследованных пациентов, на что указывает значимое снижение процента падения показателей ETP и Peak thrombin после добавления ТМ. Известно, что низкая чувствительность к ТМ является результатом несостоятельности системы протеина С, что отражает дисбаланс системы гемостаза. Полученные при исследовании генерации тромбина результаты свидетельствуют о наличии прокоагулянтной направленности системы гемостаза у пациентов с ПНГ, где ведущим патогенетическим механизмом является снижение эффективности антикоагулянтной системы протеина С, что

может быть значимым фактором риска развития тромбоэмболических осложнений. Наши данные совпадают с результатами исследований, в котором авторы, оценивая статус гемостаза у пациентов с ПНГ во время лечения экулизумабом с помощью анализа D-димера, тромбоэластографии, тромбодинамики и теста генерации тромбина, указывают на гиперкоагуляционные изменения [18].

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия, являясь редким заболеванием, характеризуется развитием тяжелых осложнений и высоким риском смерти, следовательно, ранняя диагностика и выявление гиперкоагуляционных изменений в системе гемостаза имеет важное прогностическое значение для предотвращения возможных тромбоэмболических осложнений на фоне течения этого заболевания. Тест генерации тромбина, в отличие от стандартных коагуляционных тестов, позволяет осуществлять персонифицированный подход к оценке состояния системы гемостаза, что позволит своевременно про-

водить антитромботическую терапию.

Заключение. У всех обследованных пациентов с ПНГ выявлялись признаки выраженного дисбаланса системы свертывания крови, обусловленного повышением активности фактора VIII, D-димера и эндогенного потенциала тромбина наряду со снижением эффективности работы антикоагулянтной системы протеина С, что свидетельствует о наличии гиперкоагуляции и может привести к тромботическим осложнениям. Как показали наши исследования, использование теста генерации тромбина, в том числе с добавлением тромбомодулина, является более эффективным инструментом для оценки системы свертывания крови у пациентов с ПНГ, позволяющим выявлять гиперкоагуляционные изменения с учетом вклада антикоагулянтной системы протеина С. Выявленные особенности системы гемостаза приоткрывают новые возможности профилактики

опасных для жизни тромботических событий у пациентов с ПНГ, что будет способствовать снижению летальности и повышению качества жизни у данной категории больных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Вклад авторов

Концепция и дизайн: все авторы

Сбор и обработка данных: все авторы

Предоставление материалов исследования: все авторы

Анализ и интерпретация: все авторы

Подготовка рукописи: все авторы

Окончательное одобрение рукописи: все авторы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Glazanova T.V., Chubukina Zh.V., Rozanova O.E. et al. Detection of PNH-clone in patients with depression of hemopoiesis // *Haematologica*. – 2013. – Vol. 98, Suppl 1. Abstract n. B1441. - P. 579-85.
2. Шилова Е.Р. Клиническое значение ПНГ-клона. Принципы ведения больных // *Вестник гематологии*. – 2018. – Том. XVII, №1. – С. 28-32.
3. Hill A., Richards S, P. Hillmen. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Blood*. – 2013. – Vol.121, N 25. – P. 4985-4996.
4. Кулагин А.Д., Лисуков И.А., Птушкин В.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии. Национальное гематологическое общество // *Онкогематология*. – 2014. – Т.9, №2. – С.28-32.
5. Кобилянская В.А., Шилова Е.Р., Тарковская Л.Р., Бесмельцев С.С. Изменение показателей системы гемостаза у пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией при терапии экулизумабом // *Медлайн*. – 2021. – Т.22. – С. 172-181.
6. Шилова Е.Р., Морозова Т.В., Тарковская Л.Р. Оценка динамики изменений в системе гемостаза у пациентов с апластической анемией при выявлении клинически значимого ПНГ-клона // *Вестник гематологии*. – 2022. – Т. XVIII, №4. – С. 21-25.
7. Kelly R.J., Hill A., Arnold L.M. Long-term treatment with eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sustained efficacy and improved survival // *Blood*. – 2011. – Vol.117. – P. 6786-6792.
8. Шилова Е.Р., Глазанова Т.В., Чубукина Ж.В., Кобилянская В.А. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия у пациентов с апластической анемией: проблемы, особенности, анализ клинического случая // *Клиническая онкогематология*. – 2019. – Т.12, №3. – С.319-28.
9. De Latour R.P., Mary J.Y., Salanoubat C. et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories // *Blood*. – 2008. – Vol.112. – P. 3099 – 3106.
10. Brodsky R.A.. Complementary new drug for PNH // *Blood*. – 2020. – Vol.135, N12. – P. 884-885.
11. Hill A., Kelly R., Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Blood*. – 2013. – Vol. 121, N12. – P. 4985-4996.
12. Meppiel E., Crassard I., de Latour R. Cerebral venous thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a series of 15 cases and revive of the literature // *Medicine (Baltimor)*. – 2015. – Vol. 94, N 1. – P. e362.
13. Кулагин А.Д., Климова О.У., Добронравов А.В. Клиническая манифестация и ошибки диагностики классической пароксизмальной ночной гемоглобинурии: анализ 150 наблюдений // *Клиническая онкогематология*. – 2017. – Т.10, №3. – С. 331-341.
14. Peacock-Young B., Macrae F.L., Newton D.J. et al. The prothrombotic state in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a multifaceted source // *Haematologica*. – 2018. – Vol.103, N1. – P. 9-18.
15. Van Bijnen S.T., Osterud B., Barteling W. et al. Alterations in markers of coagulation and fibrinolysis in patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria before and during treatment with eculizumab // *Thromb Res*. 2015. – Vol. 136, N 2. – P. 274-281.
16. Brodsky R. A. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Blood*. – 2014. – Vol.124, N 18. – P. 2804 – 2811.
17. Lee J.W., Jang J.H., Kim J.S. et al. Clinical sings and symptoms associated with increased risk for thrombosis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria from a Korean Registry // *Int J Hematol*. – 2013. – Vol. 97, N 6. – P. 749-57.

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства, г. Санкт-Петербург;

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва;

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова», Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, г. Санкт-Петербург;

⁴Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

ХРОНИЧЕСКИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫЙ ЛЕЙКОЗ И АТИПИЧНЫЙ ХРОНИЧЕСКИЙ МИЕЛОЛЕЙКОЗ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Резюме

Хронический нейтрофильный лейкоз и атипичный хронический миелоидный лейкоз – редкие миелопролиферативные новообразования, встречающиеся преимущественно у лиц пожилого возраста и характеризующиеся постоянным нейтрофильным лейкоцитозом, гиперклеточным костным мозгом и гепатоспленомегалией. Симптомы и клинико-лабораторные проявления хронического нейтрофильного лейкоза и атипичного хронического миелолейкоза практически неотличимы от хронического миелоидного лейкоза, а прогноз также схож в эру до внедрения таргетной терапии. В последние годы достигнуты существенные успехи в расшифровке

молекулярно-генетических основ патогенеза этих заболеваний. Внедрены молекулярно-генетические критерии диагностики, разработаны подходы к использованию таргетных препаратов. В статье приведены современные представления о диагностике и лечении хронического нейтрофильного лейкоза и атипичного хронического миелолейкоза. Также представлено клиническое наблюдение атипичного хронического миелолейкоза.

Ключевые слова: хронический нейтрофильный лейкоз, атипичный хронический миелолейкоз, молекулярно-генетическая диагностика, таргетная терапия, руксолитиниб.

Shuvaev V.A.^{1,2}, Martynkevich I.S.¹, Kustova D.V.¹, Baykov V.V.³, Krivolapov Yu.A.^{1,4}, Belyakova E.A.^{1,4},
Baram D.V.¹

¹Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint Petersburg;

²Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow;

³Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, First Pavlov State Medical University, Saint-Petersburg;

⁴North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg

CHRONIC NEUTROPHILIC LEUKEMIA AND ATYPICAL CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Abstract

Chronic neutrophilic leukemia and atypical chronic myeloid leukemia are rare myeloproliferative neoplasms that occur predominantly in the elderly, characterized by persistent neutrophilic leukocytosis, hypercellular bone marrow, and hepatosplenomegaly. Symptoms and clinical and laboratory manifestations of chronic neutrophilic leukemia and atypical chronic myeloid leukemia are practically indistinguishable from chronic myeloid leukemia and the prognosis was also similar in the era before the introduction of targeted therapy. In recent years, significant progress has been made in deciphering

the molecular genetic basis of the pathogenesis of these diseases. Molecular genetic diagnostic criteria have been introduced, and approaches to the use of targeted drugs have been developed. The article presents modern information about the diagnosis and treatment of chronic neutrophilic leukemia and atypical chronic myeloid leukemia. A clinical case of atypical chronic myeloid leukemia is also presented.

Key words: chronic neutrophilic leukemia, atypical chronic myeloid leukemia, molecular genetic diagnostics, target therapy, ruxolitinib.

Введение

Хронический нейтрофильный лейкоз (ХНЛ, код по МКБ10 С92.7) – редкий вариант миелопролиферативного новообразования, встречающийся преимущественно у лиц пожилого возраста, характеризующийся постоянным нейтрофильным лейкоцитозом, гиперклеточным костным мозгом и гепатоспленомегалией, в большинстве случаев ассоциированный с драйверными мутациями в гене рецептора колониестимулирующего фактора 3 типа (CSF3R) [1,2]. Хронический нейтрофильный лейкоз имеет общий молекулярно-генетический патогенез, клиническое течение и прогноз с атипичным хроническим миелолейкозом (аХМЛ, код по МКБ10 С92.2). Симптомы и клинико-лабораторные проявления аХМЛ практически неотличимы от ХМЛ, прогноз также был схож с ХМЛ в эру до внедрения таргетной терапии [3]. В отличие от ХМЛ, при ХНЛ и аХМЛ филадельфийская хромосома или ее варианты транслокации, равно как и ген BCR::ABL не обнаруживаются. В классификации миелоидных новообразований ВОЗ 2016 года аХМЛ отнесен в смешанную группу Миелодиспластические синдромы / Миелопролиферативные новообразования. Однако многие полагают, что более целесообразным было бы указание ХНЛ и аХМЛ в одной группе заболеваний или даже объединение в одну нозологическую форму [4]. ХНЛ и аХМЛ традиционно расценивались как редкие заболевания, однако в настоящее время они стали выявляться гораздо чаще. Во многом это связано с более широким применением в диагностике молекулярно-генетических исследований. В США первичная заболеваемость ХНЛ оценивается приблизительно 0,01, тогда

как аХМЛ около 0,03 на 100000 населения в год [5]. В настоящей статье, несмотря на общность патогенеза и клинического течения, данные заболевания будут представлены как отдельные нозологические формы.

Хронический нейтрофильный лейкоз. Этиология ХНЛ неизвестна, патогенез до недавнего времени также оставался неясным. Благодаря нескольким исследованиям наследственной хронической нейтропении [6] и наследственной (аутосомно-доминантной) нейтрофилии [7] была выявлена патогенетическая роль мутаций рецептора к гранулоцитарному колониестимулирующему фактору (Г-КСФ) третьего типа (CSF3R).

CSF3R является рецептором Г-КСФ, влияющим на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз лейкоцитов, который может быть задействован и в онкогенезе [8,9]. Мутации CSF3R описаны у больных с идиопатической хронической нейтропенией при трансформации в острый миелоидный лейкоз [7,10-12]. Эти мутации остановки трансляции приводят к укорочению цитоплазматической части рецептора CSF3R и его взаимодействию с белками SHP-1/2 и семейства SOС. Указанные структурные изменения влияют на способность CSF3R регулировать дифференцировку гранулоцитов и повышают их пролиферацию [13-18]. Сигнал с CSF3R передается в ядро посредством JAK-STAT сигнального пути через нерецепторную тирозинкиназу 2 типа SYK и киназу LYN семейства SRC [19,20].

В 2013 г. J. Maxson et al. впервые установили взаимосвязь между наличием мутаций в гене CSF3R, обладающих феноменом аутоактивации, и наличи-

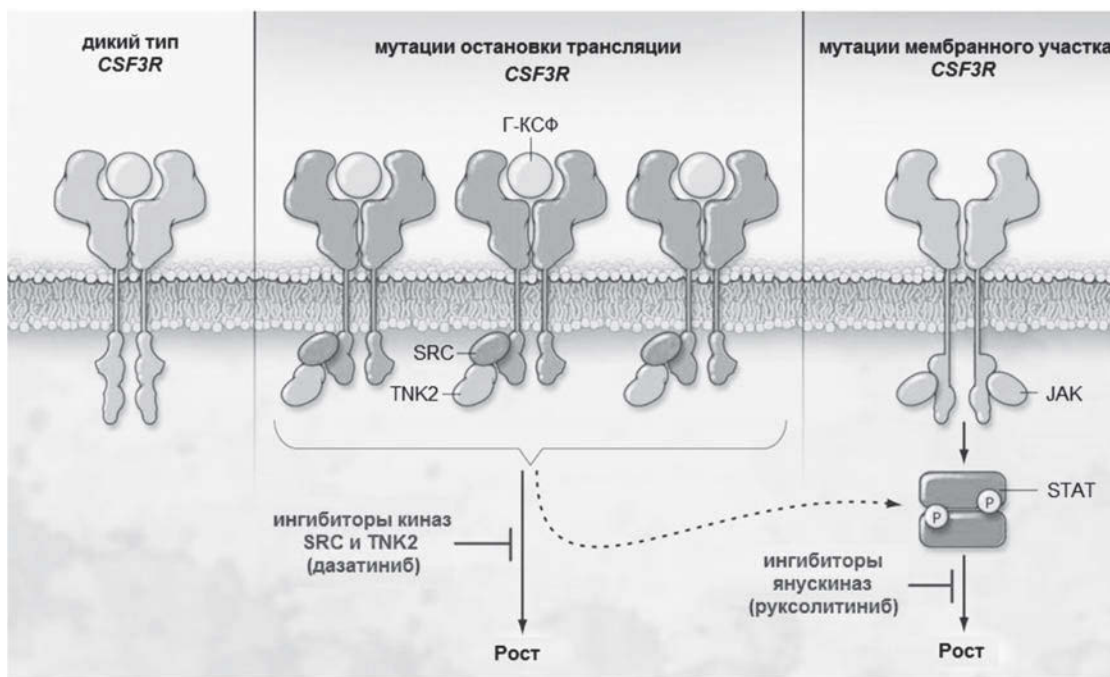


Рис. 1. Молекулярно-генетические основы патогенеза ХНЛ и точки приложения таргетных препаратов [21].

ем ХНЛ [21]. Мутации CSF3R были выявлены у 89% больных ХНЛ. В группе из 16 больных ХНЛ наиболее часто определялись мутации участка рецептора, расположенного проксимально к мембране клетки: T618I у 12 и T615A у 2 больных. Были также выявлены и мутации остановки трансляции, часто в ассоциации с мутациями T618I/T615A. В эксперименте на мышах этими же авторами было показано, что введение клеток с T618I мутацией CSF3R приводит к развитию миелопролиферативного новообразования с летальным исходом [22]. В последующем у больных с ХНЛ были описаны и другие мутации CSF3R (M696T и I598I) [23]. Исходя из молекулярно-генетических основ патогенеза ХНЛ были предприняты успешные попытки лечения ХНЛ таргетными препаратами как в эксперименте на мышах, у отдельных пациентов в рамках терапии «off-label», так в ходе клинического исследования фазы II использования руксолитиниба у пациентов с аХМЛ и ХНЛ (рис. IX-1) [21,22,24,25].

Приблизительно 10-20 % пациентов с ХНЛ не имеет мутаций в гене CSF3R и драйвером онкологического процесса в такой ситуации, по аналогии с тринегативными случаями ПМФ и ЭТ, выступают другие генетические aberrации. Как и в случаях с другими Ph-негативными МПН, при ХНЛ нередко обнаруживаются мутации в генах-эпигенетических регуляторах процессов пролиферации, которые могут служить как дополнительными драйверами, так и «катализаторами» прогрессирования заболевания, имеющими прогностическую значимость. Наиболее частыми из них являются мутации в генах ASXL1, SETBP1, SRSF2, TET2, U2AF1 [26].

Клинические проявления ХНЛ неспецифичны и схожи с симптоматикой ХМЛ. Часть больных может не иметь существенных жалоб, они обычно обращаются к гематологу по поводу лейкоцитоза, обнаруженного при профилактическом обследовании. Большинство описанных больных с ХНЛ имели потерю веса, некоторые – слабость. У всех пациентов при обследовании выявлялась спленомегалия, а в клиническом анализе крови наблюдался лейкоцитоз различной степени за счет зрелых нейтрофилов (сегментоядерных и палочкоядерных). Количество молодых форм дифференцировки нейтрофилов до метамиелоцитов не превышает 2 %. Абсолютного увеличения числа моноцитов, эозинофилов, базофилов не отмечается. У около половины больных в момент установления диагноза определяется анемия различной степени тяжести, тромбоцитоз не

наблюдался ни у одного пациента, тогда как тромбоцитопения была зарегистрирована у части больных. Уровень активности щелочной фосфатазы нейтрофилов, в отличие от пациентов с ХМЛ был повышен у подавляющего большинства больных ХНЛ. При визуальном исследовании мазка крови при ХНЛ, несмотря на наличие сдвига в лейкоцитарной формуле влево, обнаруживаются лишь единичные бласты. Эритроциты демонстрируют умеренный анизопойкилоцитоз. Дакриоциты или эритробласты в периферической крови при ХНЛ не встречаются, в отличие от ПМФ. В миелограмме наблюдается расширение гранулоцитарного ростка до 80 % и более. Большинство гранулоцитов находятся на стадиях созревания. Количество бластов не увеличено. Признаков дисгранулоцитопоза (гипогрануляция, псевдопельгеризация, тельца Ауэра) не наблюдается. Увеличения процентного содержания эозинофилов, базофилов, моноцитов при ХНЛ в костном мозге не отмечается. Эритроидный росток с нормобластическим типом созревания. Количество мегакариоцитов в пределах нормы, без существенных признаков дисплазии.

Кольцевые сидеробласты при ХНЛ не регистрируются. При гистологическом исследовании костного мозга при ХНЛ наблюдается его гиперклеточность с гранулоцитарной пролиферацией. В отличие от других форм МПН (ИП, ЭТ, ПМФ) мегакариоцитарный росток не гиперплазирован и не встречаются мегакариоциты большого размера с признаками атипичности, а также их скопления. У большинства больных в гистологических препаратах костного мозга можно выявить начальные признаки ретикулинового фиброза. При цитогенетическом исследовании клеток костного мозга у большинства больных выявлен нормальный кариотип. У некоторых больных определялись трисомии 9 и 21 хромосом, полная или частичная потеря длинного плеча 3, 11, 20 хромосом. При исследовании кариотипа в динамике у некоторых больных с нормальным кариотипом в дебюте заболевания было отмечено возникновение новых генетических aberrаций: трисомии 21 хромосомы, транслокация t(2;2), делеции 11, 12, 20 хромосом, моносомия 5 и 7 хромосом (в бластном кризе).

Обобщенная характеристика больных по данным мета-анализа публикаций наблюдения за 40 пациентами ХНЛ представлена в таблице 1 [27].

Клиническая характеристика больных хроническим нейтрофильным лейкозом [27]

Показатель	Значение
Возраст, медиана (интервал), лет	66,5 (15-86)
Мужчины/ женщины	23/17
Край селезенки ниже реберной дуги, медиана (интервал), см	4 (1-20)
Гемоглобин, медиана (интервал), г/л	112 (70-167)
Лейкоциты, медиана (интервал), $\times 10^9/\text{л}$	39,1 (11,3-125,7)
Нейтрофилы в лейкоцитарной формуле, медиана (интервал), %	87 (68-98,5)
Незрелые формы (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) нейтрофилов в лейкоцитарной формуле, медиана (интервал), %	2 (0-11)
Бласты в лейкоцитарной формуле, медиана, %	0
Тромбоциты, медиана (интервал), $\times 10^9/\text{л}$	136 (7-476)
Частота развития бластного криза %, (к-во больных)	20 (8)
Медиана наблюдения при развитии бластного криза, медиана (интервал), месяцев	21 (3-94)
Медиана общей выживаемости, месяцев	47

В классификации ХНЛ выделяют хроническую фазу, фазу акселерации и бластный криз. Критерием бластной трансформации (бластного криза) является повышение количества бластов в костном мозге и/или крови более 20%. Общепринятые диагностические критерии фазы акселерации при ХНЛ отсутствуют. Принято считать, что её признаком является потеря ответа на терапию с нарастанием лейкоцитоза и спленомегалии.

Клиническое течение заболевания у подавляющего большинства больных, несмотря на проведение сдерживающей терапии цитостатиками, характеризуется постепенной потерей эффективности терапии и дальнейшей эволюцией заболевания вплоть до бластного криза. Медиана времени наблюдения за течением ХНЛ до развития бластного криза составляет менее 2 лет. Основной причиной смерти у больных ХНЛ является геморрагический синдром с развитием кровоизлияний в центральную нервную систему. Медиана общей выживаемости составляет менее 4 лет [27,28].

ХНЛ из малоизученного заболевания, диагноз которого устанавливался методом исключения, в настоящее время превращается в нозологическую форму с высокоспецифичными молекулярно-генетическими маркерами [24]. Диагностические критерии ХНЛ в классификации ВОЗ 2016 г. претерпели редакцию, связанную с добавлением критерия наличия специфических генетических изменений. К ним в настоящее время относят следующие [4]:

1. Уровень лейкоцитов периферической крови $\geq 25 \times 10^9/\text{л}$;

- сегментоядерные и палочкоядерные нейтрофилы $>80\%$ в лейкоцитарной формуле;
- незрелые (бласты, промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) гранулоциты $<10\%$ в лейкоцитарной формуле;

- миелобласты наблюдаются редко
- количество моноцитов $<1 \times 10^9/\text{л}$
- нет дизгранулоцитопоза.

2. Гиперклеточный костный мозг:

- нейтрофильные гранулоциты увеличены в абсолютном и относительном количестве
- созревание нейтрофилов не нарушено
- миелобласты $<5\%$ ядерных клеток.

3. Не соответствует диагностическим критериям ВОЗ для хронического миелолейкоза, истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии или первичного миелофиброза.

4. Нет перестроек генов PDGFR α , PDGFR β , FGFR1 или PCM::JAK2.

5. Наличие CSF3RT618I или других активирующих CSF3R мутаций или (при отсутствии CSF3R мутации) персистирующий не менее 3 месяцев нейтрофилез, спленомегалия при отсутствии явных причин реактивного нейтрофилеза, включая отсутствие плазмоклеточных новообразований или, при наличии, доказательство клональности миелоидных клеток с помощью цитогенетических или молекулярных исследований

Для подтверждения диагноза ХНЛ необходимо наличие всех критериев.

Для диагноза при обследовании больного с подозрением на ХНЛ необходимо проводить ряд исследований, обязательно включающих гистологическое исследование трепанобиоптата костного мозга с оценкой степени фиброза [29] и генетические (цитогенетическое, молекулярно-генетическое) исследования костного мозга и крови. Совокупность результатов исследований в большинстве случаев позволяет провести дифференциальную диагностику с ХМЛ и другими МПН (кариотипирование и FISH для исключения наличия типичной t(9;22) и вариантных транслокаций, образующих слитный

ген BCR::ABL, перестроек генов PDGFR α , PDGFR β или FGFR1 или PCM::JAK2, молекулярно-генетическое исследование (качественное) крови на наличие химерного гена BCR::ABL, мутаций в генах JAK2, CALR или MPL). Для подтверждения диагноза ХНЛ необходимо проведение молекулярно-генетического исследования крови методом секвенирования на наличие мутаций в гене CSF3R, при отсутствии данных мутаций основания для подтверждения клональности можно получить с помощью исследования кариотипа и определения мутаций в генах ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/2, SRSF2, SF3B1 и других. При возможности планирования алло-ТКМ необходимо проведение HLA-типирования у пациентов и возможных доноров.

До недавнего времени лечение ХНЛ традиционно проводилось с помощью сдерживающей терапии. Наиболее часто использовался гидроксикарбамид (гидроксимочевина) или другие цитостатики в виде монотерапии или в комбинациях. Существует и единственный опыт использования интерферона-альфа [30]. Результаты сдерживающей терапии являются неудовлетворительными: прогрессирование в фазу бластного криза не предотвращается, а общая выживаемость не превышает 4 лет. У небольшого количества (5) молодых больных выполнена аллогенная трансплантация костного мозга (алло-ТКМ) с удовлетворительными результатами: летальный исход в посттрансплантационном периоде лишь у 1 из 5 больных [27].

В последние годы, благодаря расшифровке молекулярно-генетических основ патогенеза ХНЛ, сформулированы показания и получен опыт успешного использования таргетной терапии: ингибиторов янускиназ (руксолитиниб) и SRC-тирозинкиназ (дазатиниб) [24]. Ниже представлена характеристика препаратов, применение которых возможно при ХНЛ:

- Цитостатики: гидроксикарбамид; цитарабин; меркаптопурин применяются в качестве монохимиотерапии в низких дозах (гидроксикарбамид 10-30 мг/кг/сут; цитарабин 10-20 мг/м²/сут 10-14 дней каждый месяц, меркаптопурин 1-2 мг/кг/сут.). Целью применения цитостатиков является сдерживание пролиферации опухоли и контроль показателей крови для профилактики осложнений. Общепринятых стандартных схем применения не существует. Предпочтительным считается постоянный ежедневный или интермиттирующий (в случае цитарабина) прием в подобранных с учетом индивидуальной переносимости и возраста больных дозах, позволяющих контролировать показатели крови.

- Препараты интерферона-альфа (ИФН α). С учетом вероятных эффектов терапия препаратами интерферона более целесообразна у молодых больных. Оптимальная дозировка препаратов интерферона при ХНЛ не установлена. Принимая во внимание развитие частых побочных эффектов и необходи-

мость постоянной терапии, лечение проводится в максимально переносимых дозах, обеспечивающих контроль показателей крови. Дозировка может составлять от 3 до 10 млн МЕ/м² в неделю в дробных дозах. Режим введения также выбирается индивидуально с учетом переносимости (ежедневно, через день, пять дней в неделю и пр.). Сообщений об опыте применения пегилированных форм интерферона при ХНЛ в настоящее время нет.

- Ингибиторы янускиназ – препараты прицельного (таргетного) действия, блокирующие активность JAK2-киназ, направлены на ключевое звено патогенеза ХНЛ – сигнальный путь JAK-STAT. В Российской Федерации в настоящее время зарегистрирован только один препарат этого класса Руксолитиниб для лечения пациентов с ПМФ и ИП. В экспериментах на клеточных культурах показана высокая активность руксолитиниба в отношении наиболее частых мутаций гена CSF3R (T618I), затрагивающих цитоплазматический участок рецептора CSF3R. В 2013 г. было опубликовано сообщение об успешном опыте применения руксолитиниба у больного ХНЛ с мутацией CSF3RT618I [21]. Теоретические предположения и ограниченный практический опыт послужили основанием для инициации первого клинического исследования использования таргетной терапии для лечения аХМЛ и ХНЛ. В клиническом исследовании фазы 2, проводившемся с 2014 по 2020 гг. был включен 51 пациент (22 пациента с ХНЛ и 27 пациентов с аХМЛ, 2 больным при обследовании диагноз ХНЛ или аХМЛ не был подтвержден). Руксолитиниб применялся в дозах, аналогичных таковым для пациентов с ПМФ с коррекцией в зависимости от уровня тромбоцитов. В настоящее время опубликованы результаты анализа лечения 44 пациентов (21 с ХНЛ и 23 с аХМЛ). Общего ответа по критериям протокола достигли 35 % пациентов. Благоприятными факторами для достижения ответа являлись диагноз ХНЛ – 14 пациентов из 21 (67 %), в том числе 4 полных и 10 частичных ответов) и наличие мутаций в гене CSF3R – 13 из 22 больных (59 %) с наличием мутаций достигли ответа, в том числе 3 полного и 10 частичного, тогда как при отсутствии данных мутаций только у 3 из 22 (14%) наблюдался ответ на лечение (2 полных и 1 частичный) [31]. Следует отметить, что пока руксолитиниб не имеет официально зарегистрированных показаний для использования при ХНЛ и его применение у больных ХНЛ в рамках действующих юридических норм возможно только по жизненным показаниям по заключению врачебного консилиума. Рекомендуемая начальная доза руксолитиниба составляет 15 мг 2 раза в день для пациентов с количеством тромбоцитов 100-200x10⁹/л и 20 мг 2 раза в день для пациентов с уровнем тромбоцитов >200x10⁹/л. Максимальная доза составляет 25 мг 2 раза в день внутрь. Наиболее значимыми побочными эффектами руксолитиниба являются анемия, тромбоцитопения и

синдром «цитокиновой отдачи», выражающийся в быстром возврате симптомов интоксикации, вплоть до системной воспалительной реакции и спленомегалии [26].

- Дазатиниб – многоцелевой препарат, взаимодействующий со многими тирозинкиназными и нетирозинкиназными белками. Дазатиниб ингибирует тирозинкиназы семейства Src (LYN, SRC, LCK, YES, FYN), и BCR::ABL, KIT, EPHA2, PDGFR β , PDGFR α . Способен *in vitro* ингибировать рост клеточных линий, трансдуцированных геном CSF3R с мутацией S783fs, приводящей к остановке трансляции РНК, тогда как клетки с мутацией CSF3RT618I были относительно устойчивы к воздействию дазатиниба [5]. Аналогично руксолитинибу, дазатиниб также не имеет официально зарегистрированных показаний к применению при ХНЛ и может использоваться у этих больных только по жизненным показаниям. Наиболее частыми побочными эффектами использования дазатиниба являются анемия, нейтропения, тромбоцитопения, слабость, периферические отеки и плевральный выпот.

С учетом данных экспериментальных исследований возможными точками приложения таргетных препаратов являются:

- ХНЛ с мутациями, затрагивающими цитоплазматический участок рецептора CSF3R. Наиболее эффективным для таких больных может оказаться использование ингибитора янускиназ (руксолитиниба);

- ХНЛ с мутациями остановки трансляции гена CSF3R ожидается большая эффективность применения ингибиторов SRC-киназ (дазатиниб) (рис. 1) [5].

Мониторинг лечения ХНЛ при медикаментозной терапии следует осуществлять с учетом вида лекарственной терапии и индивидуальных проявлений токсичности. В первые три месяца терапии целесообразно проводить оценку клинического анализа крови и биохимических параметров (общий билирубин, АСТ, АЛТ, ЛДГ) не реже 1 раза в месяц. После стабилизации показателей крови и подбора дозы возможно проведение контрольного обследования 1 раз в три месяца. При развитии необъяснимых цитопений, нарастания спленомегалии необходимо проведение исследования костного мозга (стерильная пункция, цитогенетическое исследование) для исключения прогрессирования в фазу акселерации и бластного криза.

Единственным возможным радикальным методом лечения ХНЛ в настоящее время представляется алло-ТКМ, возможность проведения которой следует изучать сразу после установления диагноза у молодых больных ХНЛ без значимой сопутствующей патологии [2].

Атипичный хронический миелолейкоз – миелопролиферативное новообразование с очень схожей с классическим ХМЛ клинической и лабораторной симптоматикой, но без наличия филадель-

фийской хромосомы и отсутствием патологического слитного гена BCR::ABL. Как уже упоминалось ранее, аХМЛ в современной классификации ВОЗ отнесен не в группу Миелопролиферативных новообразований, а в смешанный раздел Миелодиспластические синдромы / Миелопролиферативные новообразования [4], хотя общность молекулярно-генетического патогенеза, клиники и подходы к диагностике и лечению аХМЛ имеют много общего с ХНЛ.

В пятой редакции классификации ВОЗ (2022-2023) название нозологии «Атипичный хронический миелоидный лейкоз» предлагается изменить на «Миелодиспластический синдром / миелопролиферативное новообразование с нейтрофилезом». Мотивом изменения по сообщению авторов является намерение избежать смешения понятий с типичным ХМЛ, BCR::ABL+. К сожалению, такое изменение нельзя признать удачным, так как существующее наименование как раз очень точно отражает клиническую картину и течение заболевания, крайне схожее с ХМЛ [32]. Более логичным было бы, наоборот, объединить аХМЛ с ХНЛ в общую нозологическую форму аХМЛ, имеющую общность патогенеза, течения, диагностики и лечения, и отнести эту форму по несомненным признакам миелопролиферации в группу МПН.

В двух описаниях сериях случаев, наибольших по количеству (55 и 65 пациентов), чаще наблюдались пациенты пожилого возраста с медианой около 60-70 лет, заболевание характеризовалось агрессивным течением, со склонностью к быстрому развитию бластной трансформации (медиана до прогрессирования 11-18 месяцев), общая выживаемость составляла 12-24 месяца [33,34]. Неблагоприятными прогностическими факторами для общей выживаемости считаются гиперлейкоцитоз >40 или $>50 \times 10^9/\text{л}$ при первичной диагностике, гепатоспленомегалия, бластные клетки $>5\%$ в крови, выраженный дизэритропоэз, трансфузионная зависимость, женский пол, возраст более 65 лет [33-37]. Благодаря молекулярно-генетическим исследованиям выявлены также агрессивные биологические характеристики течения заболевания – наличие мутаций в генах ASXL1, SETBP1 и TET2 [38,39].

Этиология заболевания до настоящего времени остается неизвестной. С развитием молекулярно-генетических технологий, в первую очередь секвенирования следующего поколения, было получено много новой информации в исследовании молекулярно-генетического патогенеза аХМЛ. В отличие от классических миелопролиферативных новообразований, при аХМЛ до сих пор не выявлено конкретной драйверной мутации. При обследовании пациентов с аХМЛ выявляются aberrации генов, участвующих в регуляции пролиферации и апоптоза миелоидных предшественников, которые могут наблюдаться и при других миелопролиферативных и миелодиспластических новообразованиях, что

подчеркивает общность патогенеза данных заболеваний. Молекулярно-генетическими путями, принимающими участие в патогенезе аХМЛ, с высокой вероятностью могут быть:

- эпигенетическая регуляция гистонов с помощью комплекса репрессии транскрипции PRC2 посредством мутаций генов-эпигенетических регуляторов ASXL1 и EZH2;
- активация пролиферации с помощью митоген-активирующих протеинкиназ (МАРК) посредством мутаций генов NRAS и RPTN11;
- нарушение ингибиции апоптоза онкосупрессором PP2A посредством мутаций гена SETBP1;
- стимуляцию пролиферативной активности через JAK-STAT сигнальный путь с помощью мутаций в гене рецептора колониестимулирующего фактора CSF3R;
- регуляцию синтеза фосфадитилиэтаноламина с помощью мутаций в гене ETNK1.

Часто (>20 %) при аХМЛ выявляются мутации в генах SETBP1, ASXL1, N/K-RAS, SRSF2, TET2, реже (<10%) в генах CBL, CSF3R, JAK2, ETNK1.3 [36,38,40-44].

Наиболее частой (до 25 %) молекулярно-генетической аберрацией при аХМЛ являются мутации в гене SETBP1, имеющем сложный механизм влияния на регуляцию апоптоза. [43]. Ген SETBP1 локализован на 18 хромосоме (18q21.1) и кодирует белок из 1596 оснований с молекулярной массой 170 кДа. Биологической ролью продуцируемого данным геном белка SETBP1 является его связывание с белком SET, который регулирует фосфатазную активность комплекса PP2A, одного из основных онкосупрессоров в клетке. Мутации гена SETBP1 впервые описаны при врожденном нейродегенеративном син-

дроме Schinzel-Giedion, проявляющемся задержкой психического развития, роста, часто также имеют место гидронефроз, припадки, поражения органа зрения, большинство детей с данным синдромом не доживают до 2 лет [45]. Приобретенные мутации гена SETBP1 обнаруживаются при хроническом миеломоноцитарном лейкозе, других миелоидных новообразованиях, острых лейкозах. При аХМЛ большинство мутаций в гене SETBP1 определяется между 858 и 871 кодонами. Результатом наличия мутаций является замедление деградации кодируемого им белка, что защищает белок SET от действия протеазы. Это приводит к увеличению количества белка, снижению активности PP2A и ускорению пролиферации клеток. Наличие мутаций в гене SETBP1 при аХМЛ чаще сочетается с цитогенетическими аберрациями -7 и i(17)(q10), мутациями генов ASXL1 и CBL, но не с мутациями генов TET2 и JAK2 и ассоциировано с более высоким лейкоцитозом, низкими концентрациями гемоглобина и количества тромбоцитов, ухудшением общей выживаемости [43,46].

Клиническая картина аХМЛ очень схожа с ХМЛ и складывается из неспецифической клинической симптоматики в виде общей слабости, чувства тяжести в подреберьях, обусловленных гепатоспленомегалией и клинико-лабораторной картиной в виде выраженного лейкоцитоза со сдвигом в миелоидном ряду до незрелых предшественников более 10 % с признаками дисплазии. Абсолютное количество моноцитов в крови, вследствие лейкоцитоза может составлять более $1,0 \times 10^9$ /л, но относительное их количество в лейкоцитарной формуле менее 10 %, базофилия не выражена (<2 %).

Диагностика аХМЛ также, как и в случае с ХНЛ, в первую очередь предполагает исключение клас-



Рис. 2. Алгоритм диагностики аХМЛ [47].

сического ХМЛ и других МПН: цитогенетическое и FISH исследования клеток костного мозга на t(9;22) и варианты транслокации, образующие слитный ген BCR::ABL, перестроек генов PDGFR α , PDGFR β или FGFR1 или PCM::JAK2, молекулярно-генетическое исследование (качественное) крови на наличие химерного гена BCR::ABL, мутаций в генах JAK2, CALR или MPL). Для подтверждения диагноза аХМЛ необходимо проведение молекулярно-генетического исследования крови методом секвенирования на наличие мутаций в генах SETBP1, ASXL1, N/K-RAS, SRSF2, TET2, CBL, CSF3R, JAK2, ETNK1.3. Обязательным является гистологическое исследование костного мозга с оценкой степени фиброза [29]. Для диагностики аХМЛ возможно использование алгоритма, приведенного на рис. 2 [47].

При исключении других МПН и наличии подозрений на наличие аХМЛ проводится анализ полученной при обследовании информации на соответствие диагностическим критериям аХМЛ ВОЗ 2016 г.:

- персистирующий лейкоцитоз более 13×10^9 /л вследствие повышенного количества нейтрофилов и их предшественников с выраженным дисгранулопозом;
- незрелые миелоидные предшественники (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) $>10\%$ лейкоцитов крови;
- отсутствие либо минимальный моноцитоз (обычно $<10\%$ от числа лейкоцитов);
- отсутствие либо минимальная базофилия ($<2\%$);
- отсутствие филадельфийской хромосомы или слитного гена BCR::ABL, несоответствие диагности-

ческим критериям ВОЗ для истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии или первичного миелофиброза;

- нет перестроек генов PDGFR α , PDGFR β или FGFR1 или PCM::JAK2;
- гиперклеточный костный мозг с гранулоцитарной пролиферацией и дисплазией.

Для верификации диагноза аХМЛ необходимо соответствие всем диагностическим критериям [4]. Основное внимание при подтверждении диагноза аХМЛ необходимо уделить поиску генетических aberrаций, например CSF3R, JAK2 и RAS, которые могут быть мишенями при использовании таргетных препаратов. Важно проведение HLA-типирования с целью поиска донора и решения вопроса о выполнении алло-ТКМ.

В настоящее время нет стандартных средств лечения аХМЛ, традиционно для коррекции гиперлейкоцитоза используют циторедуктивную терапию гидроксикарбамидом, но её результаты не могут считаться удовлетворительными с учетом общей и беспрогрессивной выживаемости продолжительностью 12-24 месяцев. Альтернативой или второй линией терапии после гидроксикарбамида являются препараты ИНФ- α , в том числе его пегилированные формы. В качестве терапии поддержки для коррекции анемии могут применяться препараты эритропоэтина. Характеристика препаратов и их дозировки аналогичны таковым и приведены выше при описании ХНЛ. Единственным возможным радикальным методом лечения аХМЛ является проведение алло-ТКМ, однако проведение данной процедуры возможно у небольшого числа пациентов и

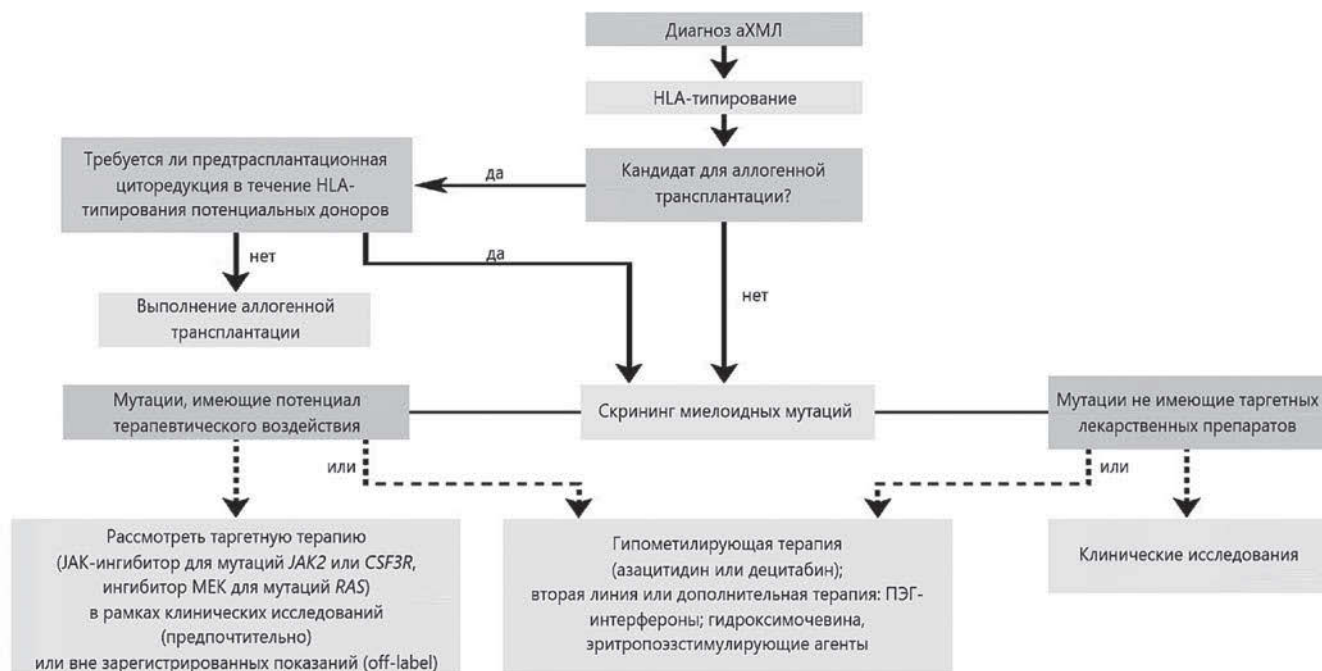


Рис. 3. Перспективный алгоритм лечения аХМЛ [47].

сопряжено с рисками летальности, общая и беспрогрессивная длительная выживаемость при проведении алло-ТКМ в группе МДС/МПН составляет не более 40-50% [48,49]. Наибольшая группа описанных случаев алло-ТКМ при аХМЛ включала 21 пациента. Через 5 лет после алло-ТКМ 17 из 21 пациента были живы, медиана выживаемости составила 46,8 месяцев [50].

С учетом информации, полученной при исследовании молекулярно-генетических aberrаций и возможного участия сигнальных путей в патогенезе аХМЛ, основные надежды на улучшение результатов лечения связаны с применением таргетных препаратов и гипометилирующих агентов. Перспективный алгоритм терапии аХМЛ приведен на рис. 3 [47].

Использование большинства таргетных препаратов при аХМЛ пока проводится только в рамках «off-label». В настоящее время проведено только одно клиническое исследование с использованием ингибитора янускиназ руксолитиниба при лечении аХМЛ и ХНЛ. В данное исследование было включено 27 пациентов с аХМЛ, использовались дозировки руксолитиниба, такие же как при лечении ПМФ. Ответ на лечение был оценен у 23 больных. Частичный ответ был получен у 2 пациентов (8,7 %), один из этих пациентов имел мутацию T615A в гене CSF3R [31].

Приводим собственное клиническое наблюдение таргетной терапии аХМЛ. Пациентка 1966 г. рождения, обратилась к гематологу по месту жительства в ноябре 2017 г. с жалобами на выраженную слабость, боли, тяжесть в левом подреберье. Клинический анализ крови от 09.11.2017 г.: гемоглобин – 104 г/л, эритроциты – $3,17 \times 10^{12}/л$, тромбоциты – $223 \times 10^9/л$, лейкоциты – $133,9 \times 10^9/л$, бластные клетки – 1 %, промиелоциты – 6 %, миелоциты – 14 %, метамиелоциты – 16 %, палочкоядерные – 14 %, сегментоядерные – 45 %, лимфоциты – 2 %, моноциты – 0 %.

УЗИ органов брюшной полости от 03.10.2017 г.: гепатомегалия (печень размерами 157 x 67 мм, воротная вена расширена до 17 мм), диффузные изменения паренхимы печени; спленомегалия (селезенка размерами 200x100 мм). Компьютерная томография от 20.10.2017 г.: печень не увеличена, спленомегалия (селезенка занимает практически всю левую половину брюшной полости, размеры 200 x 130 x 248 мм, вызывает дислокацию прилежащих органов кзади и вправо – левая почка, поджелудочная железа, петли кишечника; корень брыжейки смещен в центрально-правые отделы).

Был заподозрен хронический миелолейкоз, однако этот диагноз не был подтвержден результатами генетического исследования.

Молекулярно-генетическое исследование крови на количественную экспрессию BCR::ABL (белок p210) от 05.10.2017 г.: отрицательно. Цитогенетическое исследование костного мозга от 30.10.2011 г.:

кариотип 46,XX [20].

Молекулярно-генетическое исследование крови от 02.11.2017 г.: мутация JAK2V617F – отрицательно. BCR::ABL (белок p210), BCR::ABL (белок p190), BCR::ABL (белок p230) – не обнаружено, MPL (мутации 515 кодона), CALR (мутации 9 экзона) – не обнаружены.

С 14.11.2017 г. начата терапия гидроксикарбамидом в дозе до 2000 мг в сутки.

Гистологическое исследование костного мозга от 30.11.2017 г. (НМИЦ гематологии МЗ РФ, проф. Ковригина А.М.): костные балки с признаками очаговой резорбции. Сохранные костномозговые полости единичные, в них гиперклеточный костный мозг (относительно возрастной нормы), липоциты единичны. Гранулоцитарный росток резко расширен, представлен клетками на всех этапах дифференцировки примерно с равным соотношением элементов промежуточного и зрелого пулов. Эритроидный росток в умеренном количестве, представлен скоплениями эритрокариоцитов разной степени зрелости с наличием отдельных мегалобластоидных форм. Мегакарициты в немного сниженном количестве, представлены клетками небольших и средних размеров с гиполобулярными и гипохромными ядрами, часть – с диспластическими изменениями. Интерстициально рассеяны мелкие лимфоидные клетки, зрелые плазматические клетки. Строма полнокровна. Степень ретикулинового фиброза стромы при окраске по Gomori MF – 1. Заключение: при исключении BCR::ABL+ хронического миелолейкоза в костном мозге морфологическая картина в наибольшей степени характеризует заболевание из группы МДС/МПЗ (атипичный ХМЛ?).

В декабре 2017 г. проведено обследование в РосНИИГТ ФМБА России.

Клинический анализ крови от 05.12.2017 г.: эритроциты – $3,76 \times 10^{12}/л$, гемоглобин – 113 г/л, тромбоциты – $361 \times 10^9/л$, лейкоциты – $25,8 \times 10^9/л$, бластные клетки – 0 %, промиелоциты – 2,0 %, миелоциты – 13,0 %, метамиелоциты – 7,0 %, палочкоядерные – 8 %, сегментоядерные – 53 %, эозинофилы – 0 %, базофилы – 3 %, пролимфоциты – 0 %, лимфоциты – 13 %, моноциты – 1 %, СОЭ – 15 мм/ч.

Биохимические показатели крови от 05.12.2017 г.: билирубин общий – 12,6 мкмоль/л, билирубин связанный – 4,8 мкмоль/л, билирубин свободный – 7,8 мкмоль/л, АСТ – 0,47 мккат/л, АЛТ – 0,43 мккат/л, креатинин – 0,099 мкмоль/л, мочевины – 7,3 ммоль/л, мочевая кислота – 0,265 мкмоль/л, общий белок – 66,2 г/л, альбумин – 46,3 г/л, глюкоза – 3,8 ммоль/л, ЛДГ – 8,8 мккат/л, ЩФ – 3,23 мккат/л, холестерин – 5,1 ммоль/л, общий кальций – 2,26 ммоль/л, фосфор – 1,73 ммоль/л, магний – 1,04 ммоль/л, натрий – 142 ммоль/л, калий – 4,6 ммоль/л, кальций ионизированный – 1,27 ммоль/л, сывороточное железо – 16,96 мкм/л, ОЖСС – 78,33 мкм/л, коэффициент насыщения трансферрина – 21,7%.

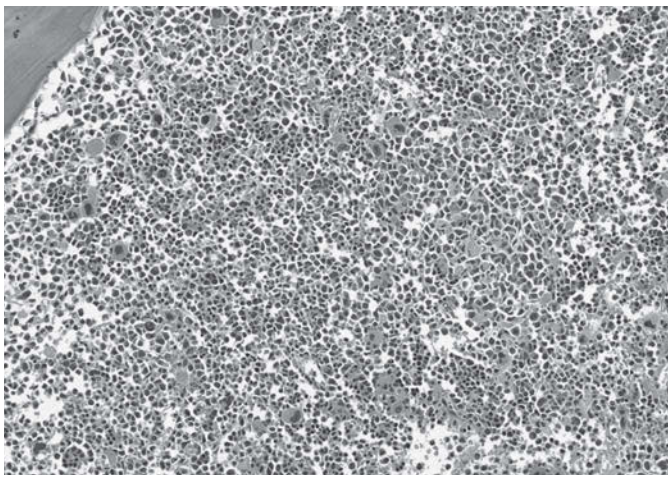


Рис. 4. Трепанобиоптат костного мозга. Окраска Азур-Эозин, увеличение $\times 200$ (микрофотографии предоставлены проф. Ю.А. Криволаповым и Е.А. Беляковой).

Миелограмма от 05.12.2017 г.: миелокарициты – $54,0 \times 10^9/\text{л}$; мегакарициты – $0 \times 10^9/\text{л}$, миелобласты – 0,6 %, промиелоциты – 5,8 %; миелоциты – 19,4 %; метамиелоциты – 15,0 %; палочкоядерные – 18 %; сегментоядерные – 16,4 %; всего клеток нейтрофильного ряда – 79,8 %; миелоциты эозинофильные – 0,2 %; метамиелоциты эозинофильные – 0,2 %, эозинофилы – 0,6 %, всего клеток эозинофильного ряда – 1,0 %; миелоциты базофильные – 0,4 %; базофилы – 0,4 %; всего клеток базофильного ряда – 0,8 %; лимфоциты – 6,2 %; всего клеток лимфоидного ряда – 6,2 %; моноциты – 1,6 %; всего клеток моноцитарного ряда – 1,6 %, плазмоциты – 0 %; всего клеток плазматического ряда – 0 %; эритробласты – 0,2 %, нормобласты базофильные – 0,4 %; нормобласты полихроматофильные – 6,4 %; нормобласты оксифильные – 0,4 %; мегалобласты – 3,2 %; всего клеток эритроидного ряда – 10,6 %; клетки стромы – 0 %; мегакарициты – 0 %. Пунктат костного мозга нормоклеточный. Нейтрофильный росток расширен, преимущественно за счет миелоцитов и промиелоцитов. Некоторые клетки нейтрофильного ряда склонны к гипогрануляции. Мегакарициты 2-3 в препарате, отделение пластинок активное. Мегакарициты диспластичны (гипоплоидные микро-, мезоформы).

- Молекулярно-генетическое исследование крови от 05.12.2017 г.: JAK2 (мутации 12 экзона) – не обнаружены.

- Цитогенетическое исследование костного мозга от 05.12.2017 г.: 46,XX [20].

- FISH исследование костного мозга от 05.12.2017 г.: химерный ген BCR::ABL не обнаружен в проанализированных интерфазных ядрах.

Гистологическое исследование костного мозга от 05.12.2017 г. (ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечнико-

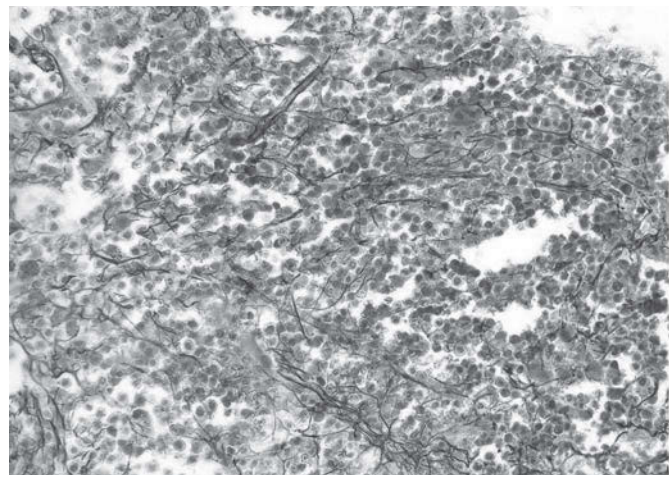


Рис. 5. Трепанобиоптат костного мозга. Ретикулиновый фиброз MF-I. Окраска по методу Гордона-Свита, увеличение $\times 200$ (микрофотографии предоставлены проф. Ю.А. Криволаповым и Е.А. Беляковой).

ва Минздрава России, к.м.н Е.Е. Леенман): костный мозг гиперклеточный. Миелоидная ткань занимает в среднем 90-100 % объема межбалочных пространств. Лейкоэритробластическое соотношение примерно 5:1. Гранулоцитарный росток расширен, созревание сохранено. Созревающие и незрелые формы образуют небольшие скопления в просвете костномозговых ячеек и вокруг костных балок. Эритроидный росток образован мелкими группами нормобластов и малочисленными мегалобластоидными формами. Количество мегакарицитов несколько увеличено, выражен полиморфизм ядер. Среди мегакарицитов преобладают клетки небольших размеров с гиполобулярными и дисморфными ядрами, встречаются голоядерные формы. Обнаруживаются гистициты с фагоцитированными эритроцитами. Степень выраженности ретикулинового фиброза – 1. Степень выраженности коллагенового фиброза – 0. Степень выраженности остеосклероза – 0. Заключение: гистологические изменения костного мозга соответствуют хроническому миелолейкозу (Ph – негативному), с признаками терапевтического патоморфоза (рис. 4 и 5).

По результатам обследования 14.12.2017 г. установлен диагноз: Атипичный хронический миелоидный лейкоз, BCR::ABL1-. Хроническая фаза от 30.11.2017 г.

Продолжена терапия гидроксикарбамидом 1000-1500 мг ежедневно в зависимости от количества лейкоцитов в крови.

При контрольном обследовании в январе-феврале 2018 г. отмечается уменьшение размеров селезенки до 3 см из-под края реберной дуги (первоначально селезенка занимала всю левую половину брюшной полости), сохраняются жалобы на слабость (3 балла по ВАШ), утомляемость, обильную

потливость со сменой нательного белья.

Клинический анализ крови от 11.01.2018 г.: эритроциты – $3,43 \times 10^{12}/л$, гемоглобин – 126 г/л, тромбоциты – $200 \times 10^9/л$, лейкоциты – $10,0 \times 10^9/л$, миелоциты – 2 %, палочкоядерные – 3%, сегментоядерные – 73 %, эозинофилы – 0%, базофилы – 2 %, лимфоциты – 16 %, моноциты – 4%, СОЭ – 3 мм/ч.

Молекулярно-генетическое исследование крови от 02.11.2017 г. (заключение от 17.01.2018 г.): обнаружена мутация в гене ASXL1 (мутации 12 экзона (кодоны 574-1082)), мутации в гене EZH2 (мутации 8,10,15,17,18,19 экзонов) – не обнаружены.

Гистологическое исследование костного мозга от 06.02.2018 г. (ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Е.А. Белякова): трепанобиоптат взят тангенциально. Костные балки неравномерно утолщены, поверхность балок неровная. Костный мозг гиперклеточный. Миелоидная ткань занимает от 60 до 90 % объема межбалочных пространств. Лейкоэритробластическое соотношение примерно 4-5:1. Гранулоцитарный росток омоложен, увеличена доля созревающих – незрелых форм. Эритроидный росток образован мелкими группами нормобластов и мегалобластоидными формами. Количество мегакариоцитов несколько увеличено. Среди мегакариоцитов преобладают клетки небольших размеров с гипобулярными и дисморфными ядрами, встречаются голаядерные клетки с гиперхромными ядрами. Обнаруживаются гистиоциты с фагоцитированными эритроцитами. Степень выраженности ретикулинового фиброза: MF-0. Степень выраженности коллагенового фиброза: Coll-0. Заключение:

гистологические изменения костного мозга наиболее соответствуют хроническому миелолейкозу (Ph – негативному), с признаками терапевтического патоморфоза (рис. 6 и 7).

Получены результаты HLA-типирования от 08.12.2017 г. Получен результат: фенотип – A*02,*25; B*18,*51; C*12,*15; DRB1*04,*13; DQB1*03,*06. Найден 1 потенциально совместимый донор и 27 с 1 mismatch (РФ) и 13 совместимых доноров в международном регистре.

С 05.02.2018 г. начата терапия руксолитинибом в дозе 30 мг в сутки, отмена терапии гидроксикарбамидом. На фоне терапии отмечена выраженная положительная динамика в виде улучшения общего самочувствия, отсутствия спленомегалии.

При контрольном обследовании в мае 2018 г.: жалоб не предъявляет, симптомов опухолевой интоксикации нет, отмечает набор 6-8 кг веса, спленомегалии не определяется.

Клинический анализ крови от 28.05.2018 г.: эритроциты – $3,85 \times 10^{12}/л$, гемоглобин – 124 г/л, гематокрит – 0,353, тромбоциты – $358 \times 10^9/л$, лейкоциты – $8,5 \times 10^9/л$, бластные клетки – 0 %, промиелоциты – 0 %, миелоциты – 0 %, метамиелоциты – 0 %, палочкоядерные – 0 %, сегментоядерные – 69 %, эозинофилы – 1 %, базофилы – 0 %, лимфоциты – 29 %, моноциты – 1 %.

Цитогенетическое исследование клеток костного мозга от 21.05.2018 г.: 46XX [30], в одной клетке выявлена i(17q), клональность изменений не подтверждена данными FISH.

Гистологическое исследование костного мозга

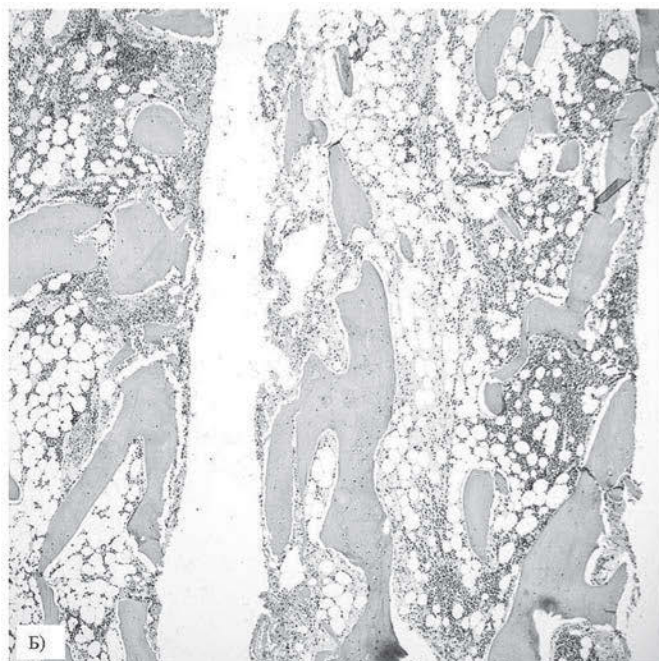
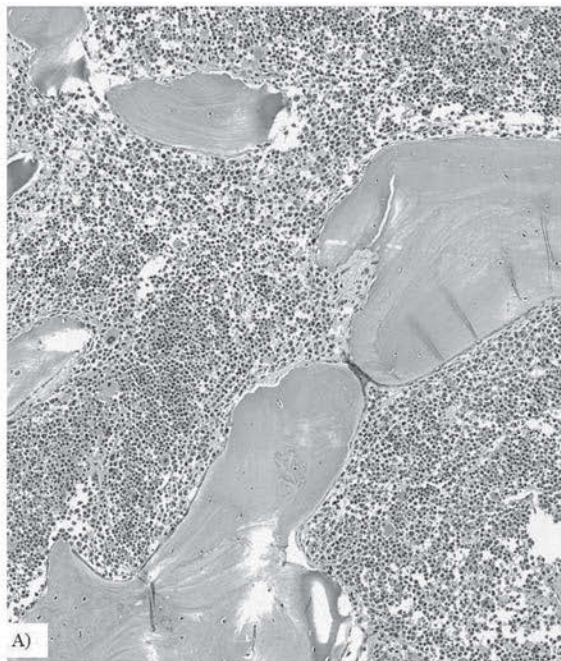


Рис. 6. Трепанобиоптат костного мозга. А) До терапии руксолитинибом, 06.02.2018 г., окраска азуром и эозином, увеличение $\times 50$. Б) После 3 месяцев терапии руксолитинибом, 21.05.2018 г., окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 50$ (микрофотографии предоставлены проф. Ю.А. Криволаповым и Е.А. Беляковой).

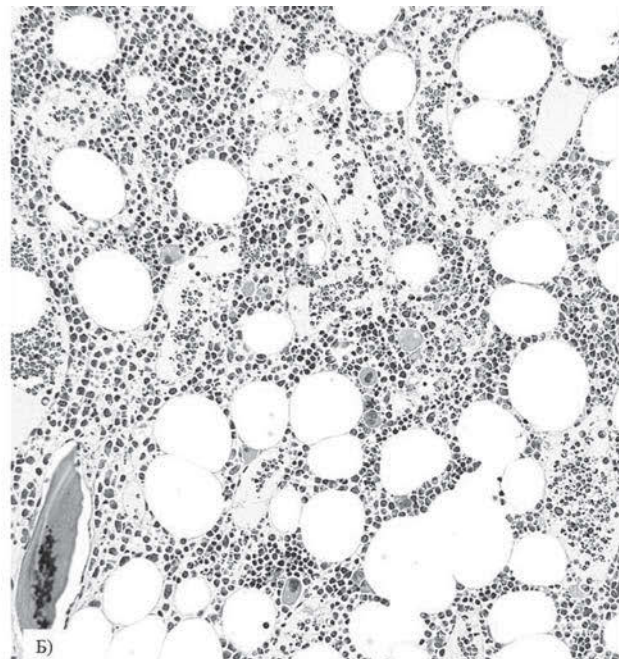
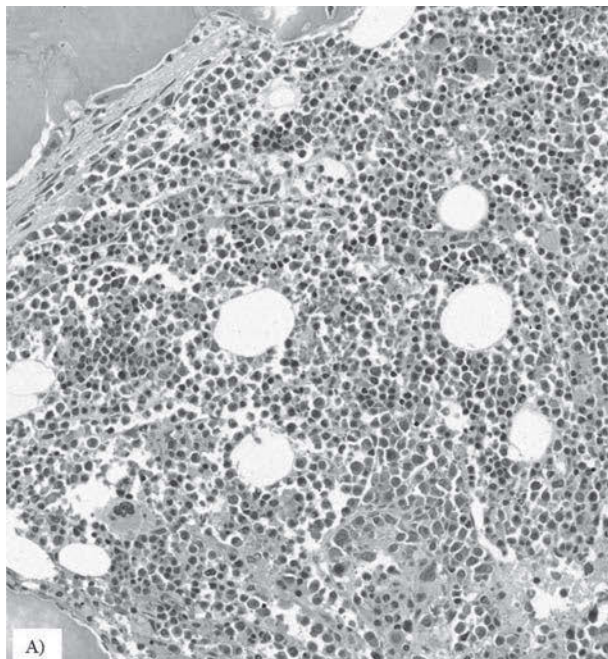


Рис. 7. Трепанобиоптат костного мозга. А) До терапии руксолитинибом, 06.02.2018 г., окраска азуром и эозином, увеличение $\times 200$. Б) После 3 месяцев терапии руксолитинибом, 21.05.2018 г., окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$ (микрофотографии предоставлены проф. Ю.А. Криволаповым и Е.А. Беляковой).

от 21.05.2018 г. (ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Е.А. Белякова): трепанобиоптат взят с артефактами механической компрессии. Костные балки неравномерно утолщены, поверхность балок неровная, локально узурированная. Визуализируются расширенные кровеносные синусы, частично заполненные эритроцитами. Миелоидная ткань с признаками отека, распределена в костномозговых ячейках неравномерно и занимает от 5 до 50 % объема межбалочных пространств, в среднем не более 30 %. Лейкоэритробластическое соотношение составляет примерно 3-4:1. Гранулоцитарный росток несколько омоложен, увеличена доля созревающих и незрелых форм. Эритроидный росток образован мелкими группами нормобластов и мегалобластоидными формами. Количество мегакариоцитов несколько снижено, они распределены неравномерно среди клеток миелоидной ткани. Среди мегакариоцитов встречаются клетки небольших размеров с гиполобулярными ядрами. Обнаруживаются гистиоциты с фаготицированными эритроцитами. Оценить степень выраженности ретикулинового фиброза невозможно в связи с очаговой деформацией трепанобиоптата. Степень выраженности коллагенового фиброза: Coll-0. Степень выраженности остеосклероза: Os-1. Заключение: гистологические изменения костного мозга наиболее соответствуют хроническому миелолейкозу (Ph-негативному), с признаками терапевтического патоморфоза. По сравнению с предыдущим исследованием от 06.02.2018 обнаруживается значительное снижение клеточности костного мозга, вплоть до

наличия участков гипоплазии и отека миелоидной ткани (рис. 6 и 7).

Молекулярно-генетическое исследование крови от 02.11.2017 г. (результат получен 28.05.2018 г.): секвенирование гена CSF3R (мутации 14 экзона) – обнаружена мутация (T618I).

Установлен окончательный диагноз: Атипичный хронический миелоидный лейкоз, CSFR3RT618I+, ASXL (12 экзон)+. Хроническая фаза от 30.11.2017 г.

Следует отметить, что это первый известный нам диагноз аХМЛ в отечественной практике, который был верифицирован с помощью молекулярно-генетических методов исследования (секвенированием гена CSF3R).

Пациентка впоследствии получала руксолитиниб в дозе 30 мг в сутки с удовлетворительной переносимостью. Приблизительно через полтора года приема руксолитиниба начал отмечаться умеренный тромбоцитоз, который потребовал добавления гидроксикарбамида в дозе 500 мг в сутки.

В апреле 2021 г. пациентка перенесла новую коронавирусную инфекцию с пневмонией, в сентябре 2021 г. проведена операция эндопротезирования левого тазобедренного сустава без осложнений. Выполнена контрольная трепанобиопсия костного мозга (рис. 8 и 9).

Гистологическое исследование трепанобиоптата В 21-10722 (ПСПбГМУ им.ак. И.П. Павлова, проф. В.В. Байков): трепанобиоптат костного мозга, размером – 1,2 x 0,15 см. Костные балки умеренной толщины. Лакуны широкие. MF0 (окраска солями серебра). Костный мозг с неравномерным распределением

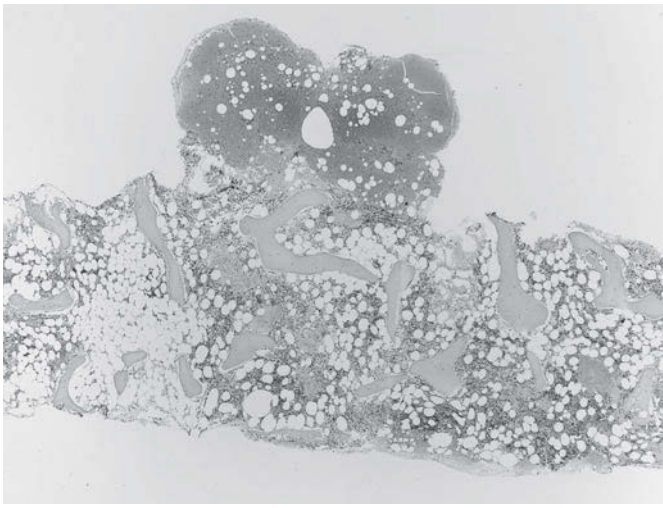


Рис. 8. Трепанобиоптат костного мозга. Неравномерно гипоклеточный костный мозг. В части лакун гемопоэз отсутствует. Окраска гематоксилин-эозин $\times 28$ (микрофотографии предоставлены проф. В.В. Байковым).

очагов гемопоэза. В 2-3 лакунах – жировой костный мозг $>80\%$ площади лакун, в остальных – гемопоэтические островки занимают около 30% площади лакун. Лейко-эритробластическое отношение – около 2:1. Гранулоцитарный росток сужен, встречаются промежуточные и зрелые формы. Клетки с бластной морфологией немногочисленные. Эритропоэз нормобластического типа, омоложен. Эритрокарициты располагаются интерстициально и в виде островков. Группы клеток – вблизи трабекул. Умеренно выраженный избыток мегакарицитов в части лакун. Клетки полиморфны. В значительном количестве клетки среднего размера с гипо-/би-/монобулярными ядрами. Лимфоидные клетки – в умеренном количестве, клетки лежат интерстициально. Плазматические клетки – в небольшом количестве. Заключение: неравномерно гипоклеточный костный мозг с умеренно выраженным избытком мегакарицитов в части лакун, диспластическими чертами в мегакариоцитах. С учетом ранее диагностированного аХМЛ, описанные изменения можно рассматривать в русле указанного диагноза (с учетом терапии).

Молекулярно-генетическое исследование крови от 28.10.2021 г.: обнаружена мутации в G646fsX12) в гене ASXL1 (также обнаружены полиморфизмы G652S, G643A), мутации в гене CSF3R (в 14 экзоне) – не обнаружены.

Пациентка продолжает прием руксолитиниба 30 мг в сутки и гидроксикарбамида 500 мг в сутки с удовлетворительной переносимостью и контролем показателей крови.

Клинический анализ крови от 30.01.2023 г.: эритроциты – $3,85 \times 10^{12}/л$, гемоглобин – 130 г/л, гематокрит – 0,37, тромбоциты – $531 \times 10^9/л$, лейкоциты

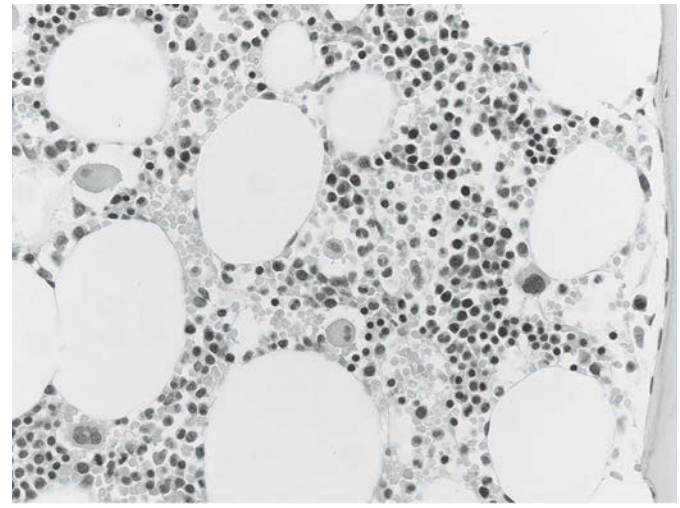


Рис. 9. Трепанобиоптат костного мозга. Резко выраженное сужение гранулоцитарного ростка. Окраска гематоксилин-эозин $\times 400$ (микрофотографии предоставлены проф. В.В. Байковым).

– $14,67 \times 10^9/л$, бластные клетки – 0% , промиелоциты – 0% , миелоциты – 1% , метамиелоциты – 0% , палочкоядерные – 2% , сегментоядерные – 85% , эозинофилы – 0% , базофилы – 0% , лимфоциты – 11% , моноциты – 1% .

В настоящее время проводится обследование с целью подготовки к проведению алло-ТКМ.

Заключение. Хронический нейтрофильный лейкоз и хронический атипичный миелолейкоз – редкие варианты опухолей миелоидной ткани. Этиология заболеваний остается до сих пор неизвестной. В результате исследований расшифрованы молекулярно-генетические основы патогенеза в виде мутаций гена рецептора к Г-КСФ (CSF3R), приняты новые критерии диагноза, включающие молекулярно-генетические методы. Лечение обычно проводится с помощью сдерживающей монокимиотерапии и оказывает незначительное влияние на общую выживаемость больных. Применение аллогенной трансплантации костного мозга, единственного радикального метода лечения, может быть использовано только у небольшой части пациентов молодого возраста без существенной сопутствующей патологии. Начато проведение клинических исследований по использованию таргетной терапии при хроническом нейтрофильном лейкозе и атипичном хроническом миелолейкозе, для оценки возможного позитивного влияния этого вида лечения на течение и исходы у пациентов с этими заболеваниями.

Конфликты интересов

Шуваев В.А. ООО "Новартис фарма" лекторские гонорары.

Байков В.В. ООО "Новартис фарма" лекторские гонорары.

Источники финансирования

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Вклад авторов

Сбор и обработка данных: В.А. Шуваев.

Предоставление материалов исследования: все

авторы.

Анализ и интерпретация данных: В.А. Шуваев.

Подготовка рукописи: В.А. Шуваев.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Szuber, N., Elliott, M., Tefferi, A. Chronic neutrophilic leukemia: 2020 update on diagnosis, molecular genetics, prognosis, and management // *Am J Hematol.* – 2020. – Vol. 95, №2. – P. 212-224.
2. Szuber, N., Elliott, M., Tefferi, A. Chronic neutrophilic leukemia: 2022 update on diagnosis, genomic landscape, prognosis, and management // *Am J Hematol.* – 2022. – Vol. 97, №4. – P. 491-505.
3. Atypical Chronic Myeloid Leukemia: Where Are We Now? / E. Crisà, M. Nicolosi, V. Ferri et al. // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2020. – Vol. 21, №18. – P. 6862.
4. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia / D.A. Arber, A. Orazi, R. Hasserjian et al. // *Blood.* – 2016. – Vol. 127, №20. – P. 2391-2405.
5. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs / D.E. Rollison, N. Howlader, M.T. Smith et al. // *Blood.* – 2008. – Vol. 112, №1. – P. 45-52.
6. Germeshausen, M., Ballmaier, M., Welte, K. Incidence of CSF3R mutations in severe congenital neutropenia and relevance for leukemogenesis: results of a long-term survey // *Blood.* – 2006. – Vol. 109, №1. – P. 93-99.
7. An activating mutation in the CSF3R gene induces a hereditary chronic neutrophilia / I. Plo, Y. Zhang, J.-P. Le Couédic et al. // *The Journal of Experimental Medicine.* – 2009. – Vol. 206, №8. – P. 1701-1707.
8. Beekman, R., Touw, I.P. G-CSF and its receptor in myeloid malignancy / R. Beekman, I.P. Touw // *Blood.* – 2010. – Vol. 115, №25. – P. 5131-5136.
9. Impaired Production and Increased Apoptosis of Neutrophils in Granulocyte Colony-Stimulating Factor Receptor-Deficient Mice / F. Liu, H.Y. Wu, R. Wesselschmidt et al. // *Immunity.* – 1996. – Vol. 5, №5. – P. 491-501.
10. Mutations in the Gene for the Granulocyte Colony-Stimulating-Factor Receptor in Patients with Acute Myeloid Leukemia Preceded by Severe Congenital Neutropenia / F. Dong, R.K. Brynes, N. Tidow et al. // *New England Journal of Medicine.* – 1995. – Vol. 333, №8. – P. 487-493.
11. Identification of a nonsense mutation in the granulocyte-colony-stimulating factor receptor in severe congenital neutropenia / F. Dong, L.H. Hoefsloot, A.M. Schelen et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 1994. – Vol. 91, №10. – P. 4480-4484.
12. Sequential gain of mutations in severe congenital neutropenia progressing to acute myeloid leukemia / R. Beekman, M.G. Valkhof, M.A. Sanders et al. // *Blood.* – 2012. – Vol. 119, №22. – P. 5071-5077.
13. The Carboxyl Terminus of the Granulocyte Colony-Stimulating Factor Receptor, Truncated in Patients with Severe Congenital Neutropenia/Acute Myeloid Leukemia, Is Required for SH2-Containing Phosphatase-1 Suppression of Stat Activation / F. Dong, Y. Qiu, T. Yi et al. // *The Journal of Immunology.* – 2001. – Vol. 167, №11. – P. 6447-6452.
14. G-CSF receptor truncations found in SCN/AML relieve SOCS3-controlled inhibition of STAT5 but leave suppression of STAT3 intact / G.-J.M. Van De Geijn, J. Gits, L.H.J. Aarts et al. // *Blood.* – 2004. – Vol. 104, №3. – P. 667-674.
15. Defective Internalization and Sustained Activation of Truncated Granulocyte Colony-Stimulating Factor Receptor Found in Severe Congenital Neutropenia/Acute Myeloid Leukemia / A.C. Ward, Y.M. Van Aesch, A.M. Schelen, I.P. Touw // *Blood.* – 1999. – Vol. 93, №2. – P. 447-458.
16. Perturbed Granulopoiesis in Mice With a Targeted Mutation in the Granulocyte Colony-Stimulating Factor Receptor Gene Associated With Severe Chronic Neutropenia / M.H.A. Hermans, A.C. Ward, C. Antonissen et al. // *Blood.* – 1998. – Vol. 92, №1. – P. 32-39.
17. Hunter, M.G., Avalos, B.R. Granulocyte colony-stimulating factor receptor mutations in severe congenital neutropenia transforming to acute myelogenous leukemia confer resistance to apoptosis and enhance cell survival // *Blood.* – 2000. – Vol. 95, №6. – P. 2132-2137.
18. Impaired neutrophil maturation in truncated murine G-CSF receptor-transgenic mice / T. Mitsui, S. Watanabe, Y. Taniguchi et al. // *Blood.* – 2003. – Vol. 101, №8. – P. 2990-2995.
19. Requirement of Src Kinase Lyn for Induction of DNA Synthesis by Granulocyte Colony-stimulating Factor / S.J. Corey, P.M. Dombrosky-Ferlan, S. Zuo et al. // *Journal of Biological Chemistry.* – 1998. – Vol. 273, №6. – P. 3230-3235.
20. Granulocyte colony-stimulating factor receptor signaling involves the formation of a three-component complex with Lyn and Syk protein-tyrosine kinases / S.J. Corey, A.L. Burkhardt, J.B. Bolen et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 1994. – Vol. 91, №11. – P. 4683-4687.
21. Oncogenic CSF3R Mutations in Chronic Neutrophilic Leukemia and Atypical CML / J.E. Maxson, J. Gotlib, D.A. Pollyea et al. // *New England Journal of Medicine.* – 2013. – Vol. 368, №19. – P. 1781-1790.
22. The CSF3R T618I mutation causes a lethal neutrophilic neoplasia in mice that is responsive to therapeutic JAK inhibition / A.G. Fleischman, J.E. Maxson, S.B. Luty et al. // *Blood.* – 2013. – Vol. 122, №22. – P. 3628-3631.
23. CSF3R T618I is a highly prevalent and specific mutation in chronic neutrophilic leukemia / A. Pardnani, T.L. Lasho, R.R. Laborde et al. // *Leukemia.* – 2013. – Vol. 27, №9. – P. 1870-1873.

24. An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms / A. Tefferi, J. Thiele, A.M. Vannucchi, T. Barbui // *Leukemia*. – 2014. – Vol. 28, №7. – P. 1407-1413.
25. Phase 2 Study of Ruxolitinib in Patients with Chronic Neutrophilic Leukemia or Atypical Chronic Myeloid Leukemia / K.-H. Dao, R.H. Collins, J.E. Cortes et al. // *Blood*. – 2018. – Vol. 132, №Supplement 1. – P. 350-350.
26. Maxson, J.E., Tyner, J.W. Genomics of chronic neutrophilic leukemia // *Blood*. – 2017. – Vol. 129, №6. – P. 715-722.
27. WHO-defined chronic neutrophilic leukemia: a long-term analysis of 12 cases and a critical review of the literature / M.A. Elliott, C.A. Hanson, G.W. Dewald et al. // *Leukemia*. – 2004. – Vol. 19, №2. – P. 313-317.
28. Chronic neutrophilic leukemia (CNL): a clinical, pathologic and cytogenetic study / M.A. Elliott, G.W. Dewald, A. Tefferi, C.A. Hanson // *Leukemia*. – 2001. – Vol. 15, №1. – P. 35-40.
29. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity / J. Thiele, H.M. Kvasnicka, F. Facchetti et al. // *Haematologica*. – 2005. – Vol. 90, №8. – P. 1128-1132.
30. Successful alpha-2b-interferon therapy for chronic neutrophilic leukemia / S. Meyer, W. Feremans, B. Cantiniaux et al. // *Am J Hematol*. – 1993. – Vol. 43, №4. – P. 307-309.
31. Efficacy of Ruxolitinib in Patients With Chronic Neutrophilic Leukemia and Atypical Chronic Myeloid Leukemia / K.T. Dao, J. Gotlib, M.M.N. Deininger et al. // *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2020. – Vol. 38, №10. – P. 1006-1018.
32. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms / J.D. Khoury, E. Solary, O. Abal et al. // *Leukemia*. – 2022. – Vol. 36. – P. 1703-1719.
33. Identification of risk factors in atypical chronic myeloid leukemia / M. Breccia, F. Biondo, R. Latagliata et al. // *Haematologica*. – 2006. – Vol. 91, №11. – P. 1566-8.
34. The new genetics of chronic neutrophilic leukemia and atypical CML: implications for diagnosis and treatment / J. Gotlib, J.E. Maxson, T.I. George, J.W. Tyner // *Blood*. – 2013. – Vol. 122, №10. – P. 1707-1711.
35. Characteristics and survival of BCR/ABL negative chronic myeloid leukemia: a retrospective analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database / S. Giri, R. Pathak, M.G. Martin, V.R. Bhatt // *Ther Adv Hematol*. – 2015. – Vol. 6, №6. – P. 308-12.
36. Atypical chronic myeloid leukemia is clinically distinct from unclassifiable myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms / S.A. Wang, R.P. Hasserjian, P.S. Fox et al. // *Blood*. – 2014. – Vol. 123, №17. – P. 2645-51.
37. Characteristics and survival of BCR/ABL negative chronic myeloid leukemia: a retrospective analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database / S. Giri, R. Pathak, M.G. Martin, V.R. Bhatt // *Therapeutic advances in hematology*. – 2015. – Vol. 6, №6. – P. 308-312.
38. Targeted next generation sequencing and identification of risk factors in World Health Organization defined atypical chronic myeloid leukemia / M.M. Patnaik, D. Barraco, T.L. Lasho et al. // *Am J Hematol*. – 2017. – Vol. 92, №6. – P. 542-548.
39. Atypical chronic myeloid leukemia: a rare entity with management challenges / P. Dhakal, K. Gundabolu, C. Amador et al. // *Future Oncol*. – 2018. – Vol. 14, №2. – P. 177-185.
40. Recurrent ETNK1 mutations in atypical chronic myeloid leukemia / C.B. Gambacorti-Passerini, C. Donadoni, A. Parmiani et al. // *Blood*. – 2015. – Vol. 125, №3. – P. 499-503.
41. Lasho, T. Atypical CML- the role of morphology and precision genomics // *Best Pract Res Clin Haematol*. – 2020. – Vol. 33, №2. – P. 101133.
42. Specific molecular mutation patterns delineate chronic neutrophilic leukemia, atypical chronic myeloid leukemia, and chronic myelomonocytic leukemia / M. Meggendorfer, T. Haferlach, T. Alpermann et al. // *Haematologica*. – 2014. – Vol. 99, №12. – P. e244-6.
43. Recurrent SETBP1 mutations in atypical chronic myeloid leukemia / R. Piazza, S. Valletta, N. Winkelmann et al. // *Nat Genet*. – 2013. – Vol. 45, №1. – P. 18-24.
44. The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes / D.P. Steensma, G.W. Dewald, T.L. Lasho et al. // *Blood*. – 2005. – Vol. 106, №4. – P. 1207-9.
45. Overlapping SETBP1 gain-of-function mutations in Schinzel-Giedion syndrome and hematologic malignancies / R. Acuna-Hidalgo, P. Deriziotis, M. Steehouwer et al. // *PLOS Genetics*. – 2017. – Vol. 13, №3. – P. e1006683.
46. SETBP1 mutations occur in 9% of MDS/MPN and in 4% of MPN cases and are strongly associated with atypical CML, monosomy 7, isochromosome i(17)(q10), ASXL1 and CBL mutations / M. Meggendorfer, U. Bacher, T. Alpermann et al. // *Leukemia*. – 2013. – Vol. 27, №9. – P. 1852-60.
47. Gotlib, J. How I treat atypical chronic myeloid leukemia // *Blood*. – 2017. – Vol. 129, №7. – P. 838-845.
48. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in adult patients with myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms / S.N. Lim, J.H. Lee, J.H. Lee et al. // *Blood Res*. – 2013. – Vol. 48, №3. – P. 178-84.
49. Postallogeic monitoring with molecular markers detected by pretransplant next-generation or Sanger sequencing predicts clinical relapse in patients with myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms / Y. Fu, T. Schroeder, T. Zabelina et al. // *European Journal of Haematology*. – 2014. – Vol. 92, №3. – P. 189-194.
50. Clinical course and molecular features in 21 patients with atypical chronic myeloid leukemia / M. Koldehoff, N.K. Steckel, Y. Hegerfeldt et al. // *International Journal of Laboratory Hematology*. – 2012. – Vol. 34, №1. – P. e3-e5.

СПИД-АССОЦИИРОВАННЫЕ ЛИМФОМЫ У ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Резюме

Лимфомы являются наиболее распространенными злокачественными новообразованиями у пациентов с ВИЧ-инфекцией. За последние десятилетия использование стандартных режимов противоопухолевого лечения наряду с комбинированной антиретровирусной терапией показало значительное улучшение показателей выживаемости пациентов с ВИЧ-ассоциированными лимфомами. В настоящем обзоре мы обсуждаем частоту ВИЧ/СПИД-ассоциированных лимфом, их клинические особенности и последние достижения в терапии. Представляем собственный опыт диагностики и лечения 5 случаев злокачественных лимфом у детей с ВИЧ-инфекцией за 30-летний период (с 1989 по 2019 гг.). Преобладание агрессивных вариантов лимфом в педиатрической когорте ВИЧ-инфицированных пациентов, более глубокая иммуносупрессия, обусловленная инициальной незрелостью иммунной

системы и необходимость проведения одновременной антиретровирусной и противоопухолевой терапии – основные постулаты в работе онкогематолога, проводящего лечение ВИЧ/СПИД-ассоциированных лимфом у детей. Эффективная антиретровирусная терапия в сочетании с полным арсеналом сопроводительной терапии позволяет проводить в полном объеме современное противоопухолевое лечение, включая таргетные препараты и трансплантационные технологии. Подобный подход способствует достижению высоких показателей выживаемости детей с ВИЧ-ассоциированными лимфомами практически аналогичных таковым в группе больных без ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека, синдром приобретенного иммунодефицита, лимфомы, неходжкинские лимфомы, лимфома Ходжкина, антиретровирусная терапия, мутации лекарственной резистентности, дети

Pavlova T.Y., Valiev T.T.

N.N. Blokhin National research Cancer Center, Moscow, Russia

AIDS-ASSOCIATED LYMPHOMAS IN CHILDREN (REVIEW)

Abstract

Lymphomas are the most common malignant neoplasms in patients with HIV infection. Over the past decades, the use of standard antitumor treatment regimens along with combined antiretroviral therapy has shown a significant improvement in the survival rates of patients with HIV-associated lymphomas. In this review, we discuss the frequency of HIV/AIDS-associated lymphomas, their clinical features and recent advances in therapy. We present our own experience in the diagnosis and treatment of 5 cases of malignant lymphomas in children with HIV infection over a 30-year period (from 1989 to 2019 years). The predominance of aggressive variants of lymphomas in the pediatric cohort of HIV-infected patients, deeper immunosuppression due to the initial immaturity of the immune system,

and the need for simultaneous antiretroviral and antitumor therapy are the main postulates in the work of an oncohematologist treating HIV/AIDS-associated lymphomas in children. Effective antiretroviral therapy in combination with a full arsenal of accompanying therapy allows for the full implementation of modern antitumor treatment, including targeted drugs and transplantation technologies. This approach makes it possible to obtain survival rates of children with HIV-associated lymphomas almost similar to those in the group of patients without HIV infection.

Keywords: human immunodeficiency virus, acquired immunodeficiency syndrome, lymphomas, non-Hodgkin's lymphomas, Hodgkin's lymphoma, antiretroviral therapy, drug resistance mutations, children.

В настоящее время в мире около 38 миллионов человек живут с ВИЧ, 2 миллиона из них – дети в возрасте до 15 лет. Подавляющее большинство детей были инфицированы вертикальным путем передачи [1]. Клинические осложнения ВИЧ-инфекции у детей более выражены, чем у взрослых [2-3]. ВИЧ в

детском возрасте развивается стремительнее и быстрее прогрессирует до терминальной стадии СПИДа [2,4], а острая стадия инфекции характеризуется более высоким уровнем вирусемии, которая менее эффективно поддается терапии, чем у взрослых [4,5]. Несколько исследований, проведенных с включени-

ем пациентов детского возраста, предполагают, что возможные причины упомянутых выше различий заключаются в сверххранном воздействии ВИЧ и его патогенов на иммунную систему, которая еще находится на стадии формирования [6,7].

Несмотря на значительные успехи, связанные с внедрением антиретровирусной терапии (АРТ), продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных людей еще не сравнима с продолжительностью жизни иммунокомпетентных лиц: ВИЧ-ассоциированное преждевременное клеточное старение подвергает их более высокому риску развития возрастных хронических заболеваний. Продолжающееся высвобождение вирионов остаточным реплицирующимся вирусом (который сохраняется на низких уровнях даже при применении эффективной АРТ) способствует поддержанию хронического воспалительного статуса, при котором высвобождение провоспалительных цитокинов способствует преждевременному клеточному старению и патофизиологическим процессам, обычно наблюдаемым у пожилых людей: почечные, сердечно-сосудистые и цереброваскулярные заболевания, метаболические и эндокринные изменения, злокачественные новообразования (ЗНО) [8-10].

Злокачественные опухоли являются основной причиной смерти ВИЧ-инфицированных лиц в экономически развитых странах, даже в эпоху антиретровирусной терапии (АРТ). Наличие ВИЧ-инфекции связано с повышенным риском развития злокачественных лимфопролиферативных заболеваний, большую часть из которых составляют неходжкинские лимфомы (НХЛ). Зарубежный и отечественный опыт в лечении пациентов с ВИЧ-ассоциированными ЗНО показал практически 100% поражение лимфоидного ростка гемопоэза, миелоидные опухоли встречаются в единичных случаях [11].

Лечение лимфом в настоящее время аналогично для ВИЧ-инфицированных пациентов и населения в целом: пациенты на фоне применения АРТ могут переносить интенсивную терапию, соответствующую стандартным программам, включая аутологичную и даже аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток. Тем не менее, лимфомы, ассоциированные с ВИЧ, имеют уникальные особенности, включая различия в патогенезе, обусловленные персистенцией ВИЧ, в дополнение к коинфекции онкогенными вирусами. Относительная частота иммуновариантов лимфом также различается в ВИЧ-инфицированной популяции и характеризуется преобладанием агрессивных вариантов, диссеминированных и экстранодальных поражений.

Противоопухолевое лечение лимфом у ВИЧ-инфицированных пациентов должно обязательно проводиться параллельно с АРТ, которая значительно изменилась за последние 20 лет, благодаря расширению доступа к эффективным средствам

профилактики, значительному совершенствованию комбинированной высокоактивной АРТ. Ожидаемая продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных лиц на АРТ увеличилась, однако АРТ не элиминирует ВИЧ полностью, поэтому ВИЧ-инфекция перешла в категорию поддающихся терапии хронических заболеваний [12]. Хотя, некоторые исследования предполагали, что при оптимальном лечении продолжительность жизни инфицированных лиц может быть аналогична продолжительности жизни неинфицированного населения [13,14], другие исследования показали, что эта цель еще не достигнута, и продолжительность жизни сокращена на 10 лет по сравнению с неинфицированными людьми [15-21]. Осложнения ВИЧ в стадии СПИДа, среди которых преобладают оппортунистические инфекции и злокачественные новообразования, уменьшились по сравнению с эпохой до применения АРТ. Однако ВИЧ-инфицированные лица, получающие АРТ, по-прежнему имеют более высокий риск заболеваемости и смертности из-за увеличения частоты широкого спектра заболеваний, связанных с процессами клеточного старения [17,18]. И, несмотря на широкодоступное применение АРТ, лимфопролиферативные заболевания остаются основной причиной смерти среди людей, инфицированных вирусом иммунодефицита человека. Даже несколько месяцев перерыва в приеме АРТ могут привести к снижению количества CD4-клеток, вирусемии ВИЧ и повышенному риску развития лимфом.

Патогенез неопластического процесса при ВИЧ

Старение клеток организма — это естественный процесс, который включает в себя потерю физиологической целостности с генерализованным снижением функции, что в конечном итоге приводит к смерти [19]. Стареющая клетка сталкивается со снижением способности справляться со стрессом и возрастающей нестабильностью хромосомного ряда. По мере старения отмечается увеличение частоты хронических воспалительных процессов [20] и возрастных сопутствующих заболеваний, включая сердечно-сосудистые, неврологические нарушения, анемию, остеопороз, заболевания печени и почек [19,20]. Персистенция ВИЧ, вызывающая хроническую иммунную реактивацию, вероятно, является ключевым детерминантом преждевременного старения. Действительно, вирусная персистенция индуцирует активацию клеток иммунной системы, которые подвергаются непрерывной стимуляции в ответ на антиген, в конечном итоге, достигая стадии старения, когда они теряют возможность выполнять свои функции. Прямым следствием клеточного деления является укорочение теломера до тех пор, пока они не достигнут критической длины, при которой реплицирующая способность клетки теряется [21], что приводит к преждевременному старению клеток и развитию тех возрастных забо-

леваний, которые связаны с потерей регенеративной способности различных тканей [22]. В настоящее время доказано, что существует связь между укорочением теломер и клеточным старением. Кроме того, сам ВИЧ может нарушать активность теломеразы (рибонуклеопротеинового ферментного комплекса, синтезирующего теломерные повторы TTAGGG [23,24]) в CD4-клетках [25]. Значение этого неблагоприятного эффекта заключается в том, что в лимфоцитах (которые отвечают пролиферацией в ответ на инфекционное воздействие) теломеры укорачиваются значительно быстрее, чем в других клетках организма [26]. Следовательно, нарушение этой регуляции на фоне ВИЧ-инфекции может увеличить апоптотическую активность в лимфоцитах и привести к дисфункции иммунной системы.

Как и у ВИЧ-инфицированных взрослых [27], у детей с ВИЧ-инфекцией наблюдается более высокая частота злокачественных новообразований по сравнению с общей популяцией [28,29]. До применения АРТ риск возникновения злокачественных новообразований был повышен в 150-200 раз, что объяснялось иммунологической дисфункцией как таковой и отсутствием адаптивного иммунного ответа против онкогенных вирусов. Саркома Капоши (КС) и неходжкинские лимфомы (НХЛ) – два определяющих СПИД-ассоциированных злокачественных новообразования, наиболее часто встречаются у инфицированных лиц [28], эти заболевания также ассоциированы с человеческим гамма-герпесвирусом 8 (HHV8) и вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) [30,31]. Применение АРТ привело к изменению природы злокачественных новообразований, связанных с ВИЧ, снижению частоты СПИД-ассоциированных ЗНО до 17-20 раз и увеличением частоты не СПИД-ассоциированных ЗНО, таких как лимфома Ходжкина, рак анального канала, плоскоклеточный рак полости рта, гепатокарцинома, аденокарцинома легкого, лейомиосаркома и карцинома Меркеля, особенно среди иммунокомпрометированных ВИЧ-инфицированных лиц, получавших антиретровирусную терапию в течение сокращенного периода времени [28]. Снижение частоты СПИД-ассоциированных ЗНО может быть связано с восстановлением CD4-клеток, частичным восстановлением иммунных функций и снижением иммунной активации, индуцированной эффективной АРТ. Например, в исследовании Petrara et al. [32] предположили, что ограничение репликации ВИЧ и связанное с этим увеличение количества CD4-клеток может предотвратить суперинфекцию ВЭБ или снизить ВЭБ-виремию, тем самым снижая риск ВЭБ-ассоциированных НХЛ. АРТ подавляет ВИЧ, но полностью не исключает действие факторов, приводящих к хронической иммунной активации [33], вследствие персистенции остаточной виремии. Хроническая иммунная активация, сопровождающаяся преждевременным иммунным старением, действительно связана с повышенным ри-

ском развития злокачественных новообразований у ВИЧ-инфицированных лиц [31, 34]. Генетическая нестабильность, вызванная ускоренной деструкцией теломер и дестабилизацией иммунного надзора, может способствовать развитию неопластического процесса. Кроме того, стареющие клетки дополнительно усиливают рост опухоли секрецией воспалительных цитокинов, факторов роста и протеаз, создавая туморогенное микроокружение [35].

ВИЧ/СПИД-ассоциированные лимфомы

В настоящее время нет единого мнения об использовании термина ВИЧ- или СПИД-ассоциированных ЗНО. В литературе используются оба варианта. Неходжкинские лимфомы являются наиболее распространенным вариантом ЗНО, связанных со СПИДом [38]. У ВИЧ-инфицированных пациентов с количеством CD4+ лимфоцитов <500 клеток/мкл частота развития НХЛ повышена в 60-200 раз [36].

После начала активного применения комбинированной антиретровирусной терапии заболеваемость НХЛ на фоне инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека, заметно снизилась. Однако, СПИД-ассоциированные НХЛ по-прежнему остаются ведущей причиной гибели пациентов, связанной со СПИДом [37].

По данным ВОЗ (2016 г.) СПИД-ассоциированные НХЛ в 95 % случаев представлены зрелоклеточными В-клеточными лимфомами, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому, лимфому Беркитта, плазмобластную лимфому. К редким иммуновариантам НХЛ при СПИДе относятся Т-клеточные лимфомы и первичные лимфомы серозных полостей. Первичные лимфомы ЦНС (ПЛЦНС) чаще встречались в эпоху до применения АРТ и редко диагностируются в настоящее время [39].

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) представляет собой наиболее распространенный иммуновариант НХЛ у ВИЧ-инфицированных пациентов и составляет примерно 45 % всех СПИД-ассоциированных НХЛ [40]. У иммунокомпрометированных пациентов иммуноповариант ДВКЛ из В-клеток герминального центра (ГСВ) связан с более благоприятным исходом, в отличие от ДВКЛ из активированных В-клеток (АВС).

Рандомизированное исследование III фазы у ВИЧ-инфицированных пациентов, проведенное AIDS Malignancy Consortium, продемонстрировало повышение частоты полного противоопухолевого ответа за счет добавления ритуксимаба к химиотерапии (58 % против 47 %). Многоцентровое когортное исследование, в которое вошли 163 ВИЧ-инфицированных пациента, показало, что ритуксимаб у пациентов с тяжелой иммуносупрессией (количество CD4+ лимфоцитов менее 100 клеток/мкл) не связан с более высоким риском смертельных инфекций [41]. Однако, до сих пор продолжается дискуссия о том, следует ли назначать ритуксимаб, если количество CD4+ лимфоцитов менее 50

клеток/мкл.

Лимфома Беркитта (ЛБ) – наиболее агрессивная НХЛ с высокой фракцией пролиферирующих клеток (Ki-67 около 100 %) и типичными хромосомными аномалиями с вовлечением протоонкогена c-myc (t(8;14)(q24;q32), реже – t(2;8)(p12;q32), t(8;22)(q24;q11). На долю ЛБ приходится от 1 % до 2 % всех случаев НХЛ взрослых, тогда как у ВИЧ-инфицированных этот показатель возрастает до 10-35 % [40,42]. ЛБ встречается у ВИЧ-инфицированных пациентов с относительно высоким количеством лимфоцитов CD4+ > 200 клеток/мкл. Самой частой локализацией являются лимфатические узлы, костный мозг и ЦНС [43]. Первичная лимфома Беркитта печени, высокоагрессивная форма экстранодальной лимфомы, была зарегистрирована как редкое начальное проявление у ВИЧ-инфицированных пациентов с серопозитивностью к гепатиту В [44].

Barnes и соавторы сообщили о 3-летней общей выживаемости (ОВ), достигшей 77 % у пациентов с ЛБ, когда к режиму химиотерапии CODOX-M/IVAC был добавлен ритуксимаб (R-CODOX-M/IVAC), по сравнению с 66 % в группе, получавшей терапию без ритуксимаба [45]. Добавление ритуксимаба в схемы химиотерапии не повысило частоту инфекционных осложнений в постхимиотерапевтическом периоде. Следовательно, ритуксимаб может использоваться в режимах химиоиммунотерапии у ВИЧ-инфицированных пациентов и его применение повышает эффективность противоопухолевого лечения.

Плазмобластная лимфома (ПЛ) – редкий иммуноподвариант В-клеточных НХЛ, при котором опухолевый субстрат представлен диффузной пролиферацией крупных клеток, напоминающих иммунобласты с иммунофенотипом плазматических клеток. Плазмобластная лимфома, как правило, выявляется у ВИЧ-инфицированных пациентов. Патогенез ПЛ связан с вирусом Эпштейна-Барр и HHV-8, а основной локализацией является ротовая полость. Частота встречаемости от 3 % до 12 % среди лимфом, связанных с ВИЧ. В связи с высокоагрессивным клиническим течением, прогноз для данной группы пациентов плохой, со средней продолжительностью жизни 6 месяцев [46]. У детей с ВИЧ-инфекцией ПЛ не описана.

Первичная лимфома серозных полостей – редкая В-клеточная лимфома, на долю которой приходится 3 % лимфом, ассоциированных со СПИДом, и 0,5 % всех лимфом [47]. Встречается преимущественно среди взрослого населения. Чаще всего поражение проявляется в виде плевральных, перикардальных и перитонеальных выпотов без солидного компонента или лимфаденопатии. Симптомы, в основном связаны с локализацией выпота и включают: лихорадку, одышку, асцит и тампонаду сердца. Гепатоспленомегалия отмечается в 67 % случаев [47].

Неходжкинские лимфомы у ВИЧ-инфицированных пациентов представлены агрессивными вариантами и на момент диагностики часто определяются в III и IV стадии. У пациентов присутствуют В-симптомы. Отмечается вовлечение костного мозга (25-40 %), ЦНС (17-32 %) и желудочно-кишечного тракта (26 %). Лептотомингеальное поражение опухолевыми клетками встречается с более высокой частотой, чем в иммунокомпетентной популяции. В то время как диффузные В-крупноклеточные лимфомы и первичные лимфомы серозных полостей обычно возникают у людей с более запущенной стадией ВИЧ-инфекции и количеством CD4+ лимфоцитов, как правило, <100 клеток/мкл [48], лимфома Беркитта может возникать при более высоком количестве CD4+ клеток.

Лимфома Ходжкина (ЛХ) как правило, проявляется по истечении 7,5 лет после постановки диагноза ВИЧ [49]. Среднее количество CD4+ лимфоцитов при диагностике ВИЧ-ассоциированной ЛХ составляет приблизительно 240 клеток/мкл. Наиболее распространенным гистологическим вариантом является смешанно-клеточный (50 %), реже встречается нодулярный склероз (25 %) и лимфоидное истощение (10 %) [49]. Клиническая картина ЛХ может напоминать диссеминированную микобактериальную инфекцию по симптомам, лабораторным данным и даже биопсии костного мозга. В отличие от ЛХ в общей популяции, ВИЧ-ассоциированная ЛХ отличается тем, что она почти всегда связана с вирусом Эпштейна-Барр и чаще характеризуется диссеминированным поражением с частым вовлечением костного мозга, В-симптомами и агрессивным течением. Терапией выбора остаются стандартные протоколы лечения – схемы ABVD и BEACOPP-escalated на фоне АРТ. Пациенты с количеством CD4+ лимфоцитов более 100 клеток/мкл на фоне АРТ имеют более высокие показатели общей выживаемости, чем пациенты, не получающие АРТ [50].

При СПИД-ассоциированных лимфомах у взрослых обычно наблюдается сочетание нескольких заболеваний: туберкулез, бактериальные, вирусные и грибковые инфекции. Дифференциальная диагностика до гистологического подтверждения проводится в первую очередь с туберкулезом. Особого внимания заслуживает выявление туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией, лихорадкой и лимфаденопатией. С одной стороны, симптомокомплекс, включающий шейную лимфаденопатию, конгломераты лимфатических узлов в брюшной полости и В-симптомы в первую очередь требуют подтверждения диагноза агрессивной лимфомы, однако биопсия лимфатического узла (как периферического, так и абдоминального), может свидетельствовать о туберкулезе [11].

Антиретровирусная терапия во время противоопухолевого лекарственного лечения

Современные рекомендации по терапии ВИЧ/

СПИД-ассоциированных лимфом заключаются в том, чтобы лечить ВИЧ-инфицированных пациентов с помощью эффективных, интенсивных курсов полихимиотерапии, как и ВИЧ-негативных больных, включая профилактику оппортунистических инфекций и поддержку гранулоцитарными колоние-стимулирующими факторами. Большинство онкогематологов продолжают АРТ во время химиотерапии, в то время как некоторые временно прекращают ее, ссылаясь на опасения токсического лекарственного взаимодействия. Тем не менее, наиболее высокие показатели выживаемости возможно получить при одновременном проведении антиретровирусного, противоопухолевого и сопроводительного лечения, что подтверждено результатами рандомизированных исследований [51]. Таким образом, прекращение или отсрочка начала АРТ во время химиотерапии может привести к серьезным инфекционным осложнениям (вплоть до летальных) и снижению показателей выживаемости больных. Параллельное использование АРТ и химиотерапии способствует более быстрому восстановлению количества Т-хелперов и NK-клеток [52].

Антиретровирусная терапия и мутации генов лекарственной резистентности

Современная АРТ при ВИЧ-инфекции включает препараты, нацеленные на вирусные ферменты. К ним относятся нуклеозидные ингибиторы и нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НРТИ и ННРТИ), такие как ламивудин, абакавир, зидовудин, эмтрицитабин, тенофовир, эфавиренц, невирапин, рилпивирин; а также ингибиторы протеазы и интегразы (ИП и ИИ) – лопинавир/ритонавир, дарунавир + ритонавир, атазанавир + ритонавир, долутегравир.

На фоне АРТ могут возникнуть побочные эффекты, включающие тошноту, рвоту, диспепсические расстройства, неврологические нарушения (периферические невриты, миопатия, нарушения слуха, зрения, вкуса, судороги), кожные аллергические реакции, угнетение костномозгового кроветворения, артралгии, нефро- и гепатотоксичность и др. Развитие выраженных побочных эффектов может стать показанием для коррекции дозы используемых антиретровирусных препаратов. Снижение дозы АРТ по медицинским показаниям или самостоятельная отмена препаратов пациентом способствует повышению вирусной нагрузки. В основном это является следствием латентности ВИЧ, то есть интеграции компетентного к репликации интактного вируса (провируса) в геном хозяина при отсутствии продуцирования вируса [53].

CD4+ Т-клетки являются основным клеточным компонентом резервуара ВИЧ. До сих пор наиболее широко изученной популяцией были CD4+ Т-хелперы, в которых находится репликационно-компетентный геном ВИЧ, не чувствительный к АРТ или иммунным клеткам. Однако в последние годы

было показано, что два других типа клеток играют важную роль в поддержании резервуара ВИЧ: стволовые клетки, подобные Т-клеткам памяти и Т-фолликулярные хелперные клетки зародышевого центра и их аналог в периферической крови (периферические Т-фолликулярные хелперные клетки). Кроме того, было продемонстрировано, что моноциты/макрофаги, дендритные клетки, а также гемопозитические стволовые клетки, играют важную роль в поддержании резервуара латентности ВИЧ. Поскольку инфицированные CD4+ Т-клетки памяти и макрофаги постоянно перемещаются по лимфоидным органам и тканям, лимфатические узлы, селезенка и кишечник представляют собой основные тканевые резервуары для ВИЧ. Более того, головной мозг, легкие, печень, костный мозг и репродуктивные органы, жировая ткань представляют собой важные локусы с уникальными иммунологическими характеристиками, которые способствуют персистенции ВИЧ [53].

Длительно сохраняющийся латентный резервуар ВИЧ в организме способствует накоплению мутаций в геноме вируса, определяющих устойчивость к АРТ. В исследовании Lorenzo-Redondo и соавт. [54] проводилось секвенирование нового поколения (NGS) образцов крови и лимфатических узлов у 3 пациентов через 3 и 6 месяцев после начала АРТ. Сравнивая эти данные с данными, полученными от тех же пациентов до начала АРТ, было отмечено, что вирусные филогении свидетельствуют о продолжающейся репликации вируса во время АРТ. Следовательно, стойкая репликация и эволюция ВИЧ происходят в лимфоидных органах и тканях, которые ответственны за пополнение вирусного резервуара.

В недавнем исследовании пациентов, получавших АРТ в течение длительного времени (до 15 лет), проанализированы события, отражающие вирусную эволюцию, которая была обнаружена до начала и/или во время АРТ. В соответствии с этим, перинатально инфицированные дети, которые начали АРТ, когда вирусное разнообразие было минимальным, не показали никаких признаков эволюции вируса в течение нескольких лет. Кроме того, отмечено, что CD4+ Т-клетки, содержащие ВИЧ, могут пролиферировать без реактивации вируса в ответ на лиганды, активизирующие Т-клеточные рецепторы или цитокины [55]. Основной причиной лекарственной устойчивости ВИЧ к АРТ является неоптимальная (по препаратам и дозам) схема АРТ и неадекватный мониторинг вирусной нагрузки.

Результаты собственных исследований

В НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России за 30 лет (с 1989 по 2019 гг.) проходили лечение 5 пациентов с ВИЧ-ассоциированными лимфомами (таблица 1).

Характеристика пациентов с ВИЧ-ассоциированными лимфомами

Пол, возраст на момент диагностики лимфомы	Диагноз	Стадия	Терапия	ВИЧ-статус и антиретровирусная терапия	Ответ на терапию	Исход, сроки наблюдения
М., 4 года	Лимфома Беркитта	IVB	B-NHL-BFM 95 (5 курсов ПХТ+ ритуксимаб)	ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний 4В. ПХТ на фоне АРТ (абакавир, ламивудин)	Полный ответ	ЖИВ Срок наблюдения 39 мес.
Ж., 16	Лимфома Ходжкина, нодулярный склероз, NS1 тип.	II	4 курса DBVE+ЛТ в СОД=26 Гр	ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний 4А. ПХТ на фоне АРТ (атазанавир, абакавир, ламивудин)	Полный ответ	ЖИВ Срок наблюдения 79 мес.
Ж., 11	Первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома	III	B-NHL 95 (4 курса ПХТ+ ритуксимаб)	ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний 4В. ПХТ на фоне АРТ (ставудин, ралтегравир, ламивудин)	Частичный ответ	ЖИВА Срок наблюдения 14 мес.
Ж., 2 года	Лимфома Беркитта	IV	R-CHOP (8 курсов)	ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний 4В. Начало АРТ после завершения ПХТ	Полный ответ	ЖИВ Срок наблюдения – 108 мес.
М., 3 года	Лимфома Ходжкина, смешанно-клеточный вариант	III	CVPP (6 курсов)	ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний 4А. АРТ не получал. 1989 г.	Полный ответ	УМЕР Срок наблюдения – 348 мес.

Известно, что у 1 из 5 пациентов заражение ВИЧ произошло посредством вертикального пути передачи, тем не менее, ребенок наблюдался в СПИД-центре по достижении 11 лет, и антиретровирусная терапия была начата через 3 месяца после постановки диагноза ВИЧ-инфекции на протяжении 2-х месяцев до возникновения СПИД-ассоциированной НХЛ. У 4 пациентов до момента возникновения лимфом ВИЧ-инфекция не была диагностирована.

Лимфомы (2 случая ЛХ и 3 случая В-клеточных НХЛ) были диагностированы у пациентов с запущенной стадией ВИЧ и, как правило, были генерализованными (III-IV стадии) с вовлечением в 2 случаях костного мозга.

У одного пациента 4-х лет с ЛБ отмечена манифестация заболевания с появления отека в области верхней челюсти, увеличение подчелюстных лимфоузлов, на протяжении двух недель проводилась местная и системная антибактериальная терапия без эффекта. В связи с появлением большого опухолевого образования верхней челюсти и орбиты, был госпитализирован в НИИ детской гематологии и онкологии. При обследовании установлен диагноз «Лимфома Беркитта, поражение шейных, подчелюстных, внутригрудных и внутрибрюшных лимфатических узлов, верхнечелюстной пазухи, орбиты, костного мозга. Стадия IVB, 3 группа риска». Диагноз ВИЧ-инфекции подтвержден в стационаре метода-

ми иммуноблотинга и полимеразной цепной реакцией. Количество Т-лимфоцитов CD4+ составляло 266 кл/мкл. Через 2 дня после поступления начата полихимиотерапия (ПХТ) в рамках протокола B-NHL-BFM95 с ритуксимабом, после 2-х курсов (блоки R+AA; R+BB) достигнут полный ответ. В дальнейшем пациент получил еще 3 курса высокодозной ПХТ без использования ритуксимаба. На фоне противоопухолевого лечения проводилась антиретровирусная терапия, согласно рекомендациям врача-инфекциониста (абакавир, ламивудин). Больной жив в течение 39 мес. после завершения терапии.

В 3 из 5 наблюдений АРТ проводилась на фоне противоопухолевого лечения и 2 из 3 пациентов живы без признаков опухоли в течение 39 и 79 мес. соответственно. В 1 из 5 случаев (пациент 3 лет с ЛХ, получавший противоопухолевое лечение без АРТ в 1989 г.) наступил летальный исход в связи с развитием терминальной стадии СПИДа без признаков ЛХ.

Следовательно, проведение АРТ до манифестации лимфом и на фоне современного противоопухолевого лечения, позволяет добиться высоких показателей выживаемости детей с лимфомами и ВИЧ-инфекцией. Обязательный динамический мониторинг вирусной нагрузки, совместное ведение таких пациентов с врачом-инфекционистом, работа социальных служб с семьями детей, больных ВИЧ,

позволят обеспечить должную комплаентность в приеме АРТ и регулярное наблюдение таких пациентов.

Заключение

Современная АРТ позволяет достичь средней продолжительности жизни ВИЧ-инфицированных лиц от 72 до 75 лет [56]. Прижизненный риск развития ЗНО у этих пациентов составляет от 25 % до 40 % [56-58]. Наиболее распространенным вариантом ЗНО у ВИЧ-инфицированных лиц в эпоху эффективной АРТ станут не солидные опухоли, а НХЛ. До проведения непрерывной АРТ современными препаратами риск НХЛ у ВИЧ-инфицированных был в 25-150 раз выше, чем у населения в целом. В настоящий момент риск развития НХЛ остается в 11-17 раз выше и к 75 годам совокупная заболеваемость НХЛ у ВИЧ-инфицированных лиц составляет 4,4 % по сравнению с 0,01 % у лиц без ВИЧ-инфекции [59].

Известно, что генетические мутации, возникающие в матричном белке ВИЧ-1 – Р17 во время естественного течения инфекции, могут по-разному влиять на сигнальные пути, индуцируя хроническое воспаление, приводящее к активации и пролиферации В-клеток в лимфатических узлах, способствуя патологической поликлональной В-клеточной экспансии [60]. Отмечено, что повышение уровня свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов на

фоне ВИЧ-виремии увеличивает в 8-12 раз риск развития НХЛ [61]. Когортные исследования показали, что длительная ВИЧ-виремия и наиболее низкое наблюдаемое значение CD4+ лимфоцитов повышают риск развития лимфом [62]. И даже относительно короткие плановые перерывы в АРТ в рандомизированном исследовании Silverberg M.J. et al. увеличивали риск возникновения ЗНО в 6 раз, а риск возникновения лимфом – в 3,7 раза [63].

Диагностируемые лимфомы у ВИЧ-инфицированных пациентов характеризуются агрессивным течением, с частым поражением костного мозга и ЦНС. Долгое время обсуждалась возможность проведения интенсивных схем терапии лимфом при ВИЧ-инфекции. В настоящее время доказано, что ВИЧ-позитивный статус не является противопоказанием для интенсивной полихимиотерапии, что у ВИЧ-инфицированных пациентов возможно проведение клеточной и таргетной терапии на фоне АРТ и сопроводительного лечения.

Привлечение всего арсенала противоопухолевых опций в лечении ВИЧ-ассоциированных лимфом, АРТ, наряду с ведением таких пациентов мультидисциплинарной командой специалистов, позволит надеяться на достижение таких же результатов, как и у ВИЧ-негативных пациентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. “UNAIDS 2019 estimates, Global AIDS Monitoring,” 2019, <http://aidsinfo.unaids.org>.
2. Prendergast A.J., Klenerman P., Goulder P.J. The impact of differential antiviral immunity in children and adults. // *Nat Rev Immunol.* – 2012. – Vol. 12, N 9. – P. 636-48.
3. Gianesin K., Freguja R., Carmona F. et al. The role of genetic variants of Stromal Cell-Derived Factor 1 in pediatric HIV-1 infection and disease progression. // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, N 9. – P. e44460.
4. De Rossi A., Masiero S., Giaquinto C. et al. Dynamics of viral replication in infants with vertically acquired human immunodeficiency virus type 1 infection. // *J Clin Invest.* – 1996. – Vol. 97, N 2. – P. 323-330.
5. Henrard D.R., Phillips J.F., Muenz L.R. et al. Natural history of HIV-1 cell-free viremia. // *JAMA.* – 1995. – Vol. 274, N 7. – P. 554-558.
6. Côté H.C., Soudeyns H., Thorne A. et al. Leukocyte telomere length in HIV-infected and HIV-exposed uninfected children: shorter telomeres with uncontrolled HIV viremia. // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, N 7. – P. e39266.
7. Méndez-Lagares G., Díaz L., Correa-Rocha R. et al. Specific patterns of CD4-associated immunosenescence in vertically HIV-infected subjects. // *Clin Microbiol Infect.* – 2013. – Vol. 19, N 6. – P. 558-565.
8. Hazra R., Siberry G.K., Mofenson L.M. Growing up with HIV: children, adolescents, and young adults with perinatally acquired HIV infection. // *Annu Rev Med.* – 2010. – Vol. 61. – P. 169-185.
9. Guaraldi G., Palella F.J. Clinical implications of aging with HIV infection: perspectives and the future medical care agenda. // *AIDS.* – 2017. – Vol. 31, Suppl 2. – P. S129-S135.
10. Chiappini E., Bianconi M., Dalzini A. et al. Accelerated aging in perinatally HIV-infected children: clinical manifestations and pathogenetic mechanisms. // *Aging (Albany NY).* – 2018. – Vol. 10, N 11. – P. 3610-3625.
11. Пивник А.В., Туманова М.В., Серегин Н.В. и другие. Лимфомы у ВИЧ-инфицированных больных: обзор литературы. // *Клин. Онкогематол.* – 2014. Т. 76 № 3. – С. 264–277.
12. Deeks S.G., Lewin S.R., Havlir D.V. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. *Lancet.* // 2013. – Vol. 382, N 9903. – P. 1525-1533.
13. Nakagawa F., May M., Phillips A. Life expectancy living with HIV: recent estimates and future implications. // *Curr Opin Infect Dis.* – 2013. – Vol. 26, N 1. – P. 17-25.
14. May M.T., Gompels M., Delpech V. et al. UK Collaborative HIV Cohort (UK CHIC) Study. Impact on life expectancy of HIV-1 positive individuals of CD4+ cell count and viral load response to antiretroviral therapy. // *AIDS.* – 2014. – Vol. 28, N 8. – P. 1193-11202.
15. Wing E.J. HIV and aging. // *Int J Infect Dis.* – 2016. – Vol. 53. – P. 61-68.
16. IeDEA Pediatric Working Group. Taking a critical look at the UNAIDS global estimates on paediatric and adolescent HIV survival and death. // *J Int AIDS Soc.* – 2017. – Vol. 20, N 1. – P. 21952.

18. Rickabaugh T.M., Kilpatrick R.D., Hultin L.E. et al. The dual impact of HIV-1 infection and aging on naïve CD4 T-cells: additive and distinct patterns of impairment. // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, N 1. – P. e16459.
19. Effros R.B., Fletcher C.V., Gebo K. et al. Aging and infectious diseases: workshop on HIV infection and aging: what is known and future research directions. // *Clin Infect Dis*. – 2008. – Vol. 47, N 4. – P. 542-553.
20. Kennedy B.K., Berger S.L., Brunet A. et al. Geoscience: linking aging to chronic disease. // *Cell*. – 2014. – Vol. 159, N 4. – P. 709-713.
21. Lagathu C., Cossarizza A., Béréziat V. et al. Basic science and pathogenesis of ageing with HIV: potential mechanisms and biomarkers. // *AIDS*. – 2017. – Vol. 31, Suppl 2. – P. S105-S119.
22. Hewitt G., Jurk D., Marques F.D. et al. Telomeres are favoured targets of a persistent DNA damage response in ageing and stress-induced senescence. // *Nat Commun*. – 2012. – Vol. 3. – P. 708.
23. Armanios M., Blackburn E.H. The telomere syndromes. // *Nat Rev Genet*. – 2012. – Vol. 13, N 10. – P. 693-704.
24. Armanios M., Alder J.K., Parry E.M. et al. Short telomeres are sufficient to cause the degenerative defects associated with aging. // *Am J Hum Genet*. – 2009. – Vol. 85, N 6. – P. 823-832.
25. Ballon G., Ometto L., Righetti E. et al. Human immunodeficiency virus type 1 modulates telomerase activity in peripheral blood lymphocytes. // *J Infect Dis*. – 2001. – Vol. 183, N 3. – P. 417-424.
26. Franzese O., Adamo R., Pollicita M. et al. Telomerase activity, hTERT expression, and phosphorylation are downregulated in CD4(+) T lymphocytes infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). // *J Med Virol*. – 2007. – Vol. 79, N 5. – P. 639-646.
27. Weng N.P., Levine B.L., June C.H. et al. Regulated expression of telomerase activity in human T lymphocyte development and activation. // *J Exp Med*. – 1996. – Vol. 183, N 6. – P. 2471-2479.
28. Biggar R.J., Chaturvedi A.K., Goedert J.J. et al. HIV/AIDS Cancer Match Study. AIDS-related cancer and severity of immunosuppression in persons with AIDS. // *J Natl Cancer Inst*. – 2007. – Vol. 99, N 12. – P. 962-972.
29. Chiappini E., Galli L., Tovo P.A. et al; Italian Register for HIV Infection in Children. Cancer rates after year 2000 significantly decrease in children with perinatal HIV infection: a study by the Italian Register for HIV Infection in Children. // *J Clin Oncol*. – 2007. – Vol. 25, N 1. – P. 97-101.
30. Biggar R.J., Frisch M., Goedert J.J. Risk of cancer in children with AIDS. AIDS-Cancer Match Registry Study Group. // *JAMA*. – 2000. – Vol. 284, N 2. – P. 205-209.
31. Petrara M.R., Freguja R., Gianesin K. et al. Epstein-Barr virus-driven lymphomagenesis in the context of human immunodeficiency virus type 1 infection. // *Front Microbiol*. – 2013. – Vol. 4. – P. 311.
32. Breen E.C., Hussain S.K., Magpantay L. et al. B-cell stimulatory cytokines and markers of immune activation are elevated several years prior to the diagnosis of systemic AIDS-associated non-Hodgkin B-cell lymphoma. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2011. – Vol. 20, N 7. – P. 1303-1314.
33. Petrara M.R., Penazzato M., Massavon W. et al. Epstein-Barr virus load in children infected with human immunodeficiency virus type 1 in Uganda. // *J Infect Dis*. – 2014. – Vol. 210, N 3. – P. 392-329.
34. Regidor D.L., Detels R., Breen E.C. et al. Effect of highly active antiretroviral therapy on biomarkers of B-lymphocyte activation and inflammation. // *AIDS*. – 2011. – Vol. 25, N 3. – P. 303-314. doi:
35. Douek D.C., Roederer M., Koup R.A. Emerging concepts in the immunopathogenesis of AIDS. // *Annul Rev Med*. – 2009. – Vol. 60. – P. 471-484.
36. Campisi J., Andersen J.K., Kapahi P. et al. Cellular senescence: a link between cancer and age-related degenerative disease? // *Semin Cancer Biol*. – 2011. – Vol. 21, N 6. – P. 354-359.
37. Castelli R., Schiavon R., Preti C. et al. HIV-Related Lymphoproliferative Diseases in the Era of Combination Antiretroviral Therapy. // *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. – 2020. – Vol. 20, N 3. – P. 175-180.
38. Lewden C., May T., Rosenthal E. et al. ANRS EN19 Mortalité Study Group and Mortavic1. Changes in causes of death among adults infected by HIV between 2000 and 2005: The "Mortalité 2000 and 2005" surveys (ANRS EN19 and Mortavic). // *J Acquir Immune Defic Syndr*. – 2008. – Vol. 48, N 5. – P. 590-598.
39. Grulich A.E., Li Y., McDonald A.M. et al. Decreasing rates of Kaposi's sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in the era of potent combination anti-retroviral therapy. // *AIDS*. – 2001. – Vol. 15, N 5. – P. 629-33.
40. Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A. et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. // *Blood*. – 2016. – Vol. 127, N 20. – P. 2375-2390.
41. Schommers P., Hentrich M., Hoffmann C. et al. Survival of AIDS-related diffuse large B-cell lymphoma, Burkitt lymphoma, and plasmablastic lymphoma in the German HIV Lymphoma Cohort. // *Br J Haematol*. – 2015. – Vol. 168, N 6. – P. 806-810.
42. Wyen C., Jensen B., Hentrich M. et al. Treatment of AIDS-related lymphomas: rituximab is beneficial even in severely immunosuppressed patients. // *AIDS*. – 2012. – Vol. 26, N 4. – P. 457-464.
43. Gibson T.M., Morton L.M., Shiels M.S. et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma subtypes in HIV-infected people during the HAART era: a population-based study. // *AIDS*. – 2014. – Vol. 28, N 15. – P. 2313-2318.
44. Dozzo M., Carobolante F., Donisi P.M. et al. Burkitt lymphoma in adolescents and young adults: management challenges. // *Adolesc Health Med Ther*. – 2016. – Vol. 23, N 8. – P. 11-29.
45. Kaplan L.D., Ai W. AIDS-related lymphomas: Clinical manifestations, diagnosis, and staging of systemic lymphoma. // *UpToDate*, 2017.
46. Barnes J.A., Lacasce A.S., Feng Y. et al. Evaluation of the Addition of Rituximab to CODOX-M/IVAC for Burkitt's Lymphoma: A Retrospective Analysis. // *Ann Oncol*. – 2011. – Vol. 22, N 8. – P. 1859-1864.
47. Makis W., Ciarallo A., Lisbona R. Plasmablastic lymphoma of the oral cavity in an HIV-positive patient: staging with

18F-FDG PET/CT. // *Acta Radiol.* – 2011. – Vol. 52, N 9. – P. 970-972.

48. Borie R., Cadranet J., Guihot A. et al. Pulmonary manifestations of human herpesvirus-8 during HIV infection. // *Eur Respir J.* – 2013. – Vol. 42, N 4. – P. 1105-1118.

49. Gabarre J., Raphael M., Lepage E. et al; Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). Human immunodeficiency virus-related lymphoma: relation between clinical features and histologic subtypes. // *Am J Med.* – 2001. – Vol. 111, N 9. – P. 704-711.

50. Jacobson C.A., Abramson J.S. HIV-Associated Hodgkin's Lymphoma: Prognosis and Therapy in the Era of cART. // *Adv Hematol.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 507257.

51. Brackers de Hugo L., Ffrench M., Broussolle C. et al. Granulomatous lesions in bone marrow: clinicopathologic findings and significance in a study of 48 cases. // *Eur J Intern Med.* – 2013. – Vol. 24, N 5. – P. 468-473.

52. Lawn S.D., Török M.E., Wood R. Optimum time to start antiretroviral therapy during HIV-associated opportunistic infections. // *Curr Opin Infect Dis.* – 2011. – Vol. 24, N 1. – P. 34-42.

53. Powles T., Imami N., Nelson M. et al. Effects of combination chemotherapy and highly active antiretroviral therapy on immune parameters in HIV-1 associated lymphoma. // *AIDS.* – 2002. – Vol. 16, N 4. – P. 531-536.

54. Bandera A., Gori A., Clerici M. et al. Phylogenies in ART: HIV reservoirs, HIV latency and drug resistance. // *Curr Opin Pharmacol.* – 2019. – Vol. 48. – P. 24-32.

55. Lorenzo-Redondo R., Fryer H.R., Bedford T. et al. Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. // *Nature.* – 2016. – Vol. 530. – P. 51-56.

56. Wang Z., Gurule E.E., Brennan T.P. et al Expanded cellular clones carrying replication-competent HIV-1 persist, wax, and wane. // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2018. – Vol. 115, N 11. – P. E2575-E2584.

57. Lohse N., Obel N. Update of Survival for Persons with HIV Infection in Denmark. // *Ann Intern Med.* – 2016. – Vol. 165, N 10. – P. 749-750.

58. Patel P., Hanson D.L., Sullivan P.S. et al. Adult and Adolescent Spectrum of Disease Project and HIV Outpatient Study Investigators. Incidence of types of cancer among HIV-infected persons compared with the general population in the United States, 1992-2003. // *Ann Intern Med.* – 2008. – Vol. 148, N 10. – P. 728-736.

59. Seaberg E.C., Wiley D., Martínez-Maza O. et al; Multicenter AIDS Cohort Study (MACS). Cancer incidence in the multicenter AIDS Cohort Study before and during the HAART era: 1984 to 2007. // *Cancer.* – 2010. – Vol. 116, N 23. – P. 5507-5516.

60. Silverberg M.J., Lau B., Achenbach C.J. et al. North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design of the International Epidemiologic Databases to Evaluate AIDS. Cumulative Incidence of Cancer Among Persons with HIV in North America: A Cohort Study. // *Ann Intern Med.* – 2015. – Vol. 163, N 7. – P. 507-518.

61. Martorelli D., Muraro E., Mastorci K. et al. A natural HIV p17 protein variant up-regulates the LMP-1 EBV oncoprotein and promotes the growth of EBV-infected B-lymphocytes: implications for EBV-driven lymphomagenesis in the HIV setting. // *Int J Cancer.* – 2015. – Vol. 137, N 6. – P. 1374-1385.

62. Landgren O., Goedert JJ, Rabkin C.S. et al. Circulating serum free light chains as predictive markers of AIDS-related lymphoma. // *J Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 28, N 5. – P. 773-779.

63. Collaboration of Observational HIV Epidemiological Research Europe (COHERE) Study Group, Bohlius J., Schmidlin K., Costagliola D. et al. Incidence and risk factors of HIV-related non-Hodgkin's lymphoma in the era of combination antiretroviral therapy: a European multicohort study. // *Antivir Ther.* – 2009. – Vol. 14, N 8. – P. 1065-1074.

64. Silverberg M.J., Neuhaus J., Bower M. et al. Risk of cancers during interrupted antiretroviral therapy in the SMART study. // *AIDS.* – 2007. – Vol. 21, N 14. – P. 1957-1963.

ОСТРЫЙ МИЕЛОИДНЫЙ ЛЕЙКОЗ (ЛЕКЦИЯ)

Резюме

Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) – клональные опухолевые заболевания кроветворной ткани, связанные с мутацией в клетке-предшественнице гемопоэза. В статье представлены современная классификация и диагностика острых миелоидных лейкозов. Приведены современные схемы лечения, в том числе больных с рецидивом острого лейкоза.

Статья представляет особый интерес для врачей-гематологов, терапевтов, клинических ординаторов и студентов медицинских вузов.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, классификация, терапия, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, выживаемость.

Gindina T.L., Smirnova A.G., Bondarenko S.N.

R.M. Gorbacheva Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology, Pavlov St. Petersburg State Medical University

ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Abstract

Acute myeloid leukemias are clonal tumor diseases of hematopoietic tissue associated with a mutation in the precursor cell of hematopoiesis. The article presents the modern classification and diagnosis of acute myeloid leukemia. Modern treatment regimens, including patients with relapse of acute leukemia, are given.

The article is of particular interest to hematologists, therapists, clinical residents and students of medical universities.

Keywords: acute myeloid leukemia, classification, therapy, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, survival.

Введение

Последние достижения включают понимание клинического значения геномных аномалий для диагностики и прогноза ОМЛ, клинического значения наследственной предрасположенности к ОМЛ, технологических достижений в количественной оценке минимальной (измеримой) остаточной болезни и ее прогностического значения для оценки глубины ответа и риска рецидива, и привели к созданию новой классификации, диагностическим и прогностическим алгоритмам. В данной статье освещаются эти достижения и стандарты лечения ОМЛ.

Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) – клональные опухолевые заболевания кроветворной ткани, связанные с мутацией в клетке-предшественнице гемопоэза, следствием которой становятся блок дифференцировки и бесконтрольная пролиферация незрелых миелоидных клеток

Этиология и патогенез

В большинстве случаев конкретная причина возникновения ОМЛ остается неизвестной. Однако существует несколько предрасполагающих факторов, которые увеличивают риск заболевания: ионизирующая радиация, химио- и радиотерапии по поводу других опухолей, курение, длительное воздействие на организм бензола и его производных.

В основе развития ОМЛ лежат мутации в гене-

тическом материале клоногенной кроветворной клетки. В результате этого происходят нарушение контроля за клеточным циклом, изменение процесса транскрипции и продукции ряда ключевых белков. В дальнейшем по причине бесконтрольной пролиферации и отсутствия дифференцировки происходит накопление опухолевых (бластных) клеток. Обнаружение различных хромосомных aberrаций (транслокаций, делеций, инверсий и т. д.) при ОМЛ подтверждает, что патогенез заболевания связан с генетическими поломками.

Эпидемиология

Заболевают ОМЛ в среднем 3–5 человек на 100000 населения в год. Медиана возраста ОМЛ составляет 65 лет. В возрасте старше 60 лет заболеваемость ОМЛ резко возрастает и составляет 12–13 случаев на 100000 населения у лиц в возрасте старше 80 лет (по данным Европейских и Американских исследователей).

По результатам регистрационного исследования, выполненного российской исследовательской группой по изучению острых лейкозов в пяти регионах РФ (Калужская, Кировская, Рязанская, Тамбовская и республика Мордовия) заболеваемость ОМЛ составила 1,32 случаев на 100000 населения в год, медиана возраста 59 лет, различий по полу выявлено не было. Эти показатели свидетельствуют как о недо-

статочной диагностике ОМЛ у пациентов старшей возрастной группы, так и о меньшей продолжительности жизни населения в нашей стране.

Ретроспективный анализ заболеваемости ОМЛ в г. Москве продемонстрировал более высокий показатель – 2,9 случаев на 100000 населения в год, медиана возраста на момент установления диагноза также была ближе к Американским и Европейским данным – 64,1 лет.

Диагностика

В настоящее время известно, что ОМЛ развивается в результате последовательного приобретения соматических мутаций в гемопоэтических стволовых клетках и клетках-предшественницах, обладающих способностью к самообновлению и размножению неопластического клона. Иницирующие лейкоз мутации могут приводить к пролиферативному преимуществу клеточного клона, так называемому клональному гемопоэзу, распространенному

предлейкозному состоянию, частота которого увеличивается с возрастом. Хотя некоторые мутации, такие как DNMT3A, TET2 и ASXL1, более распространены в клональном кроветворении и, по-видимому, являются относительно ранними событиями лейкозогенеза, другие, как правило, приобретаются позже в ходе развития заболевания, включая мутации в генах FLT3, NRAS и RUNX1. Комбинации мутаций, которые в конечном итоге приводят к лейкозогенезу, зависят от биологического взаимодействия между мутированными генами.

Классификация острых миелоидных лейкозов

Одна из первых классификаций ОМЛ была предложена в 1976 году рабочей группой гематологов Франции, Америки и Великобритании (FAB - классификация), она основана на морфологических и цитохимических характеристиках клеток крови и костного мозга (таблица 1).

Таблица 1

Морфологическая (FAB) классификация ОМЛ

Вариант ОМЛ	Морфологические критерии (по данным миелограммы)	Миелопероксидаза, липиды	Неспецифические эстеразы
М0 острый миелобластный лейкоз с минимальной дифференцировкой	30 и более % миелобластов без гранул, палочки Ауэра (-)	-	-
М1 острый миелобластный лейкоз без признаков созревания	30 и более % миелобластов без гранул или с минимальным количеством гранул, созревающих клеток гранулоцитарного ряда менее 10%, палочки Ауэра (+/-)	+	-
М2 острый миелобластный лейкоз с признаками созревания	30 и более % миелобластов содержат гранулы, 10 и более % составляют промиелоциты или другие созревающие клетки, менее 20 % моноциты, палочки Ауэра (+)	++	-
М3 острый промиелоцитарный лейкоз	30 и более % миелобластов и промиелоцитов, менее 10 % составляют созревающие гранулоцитарные клетки, палочки Ауэра (+/-)	++	++
М4 острый миеломоноцитарный лейкоз	30 и более % миелобластов, монобластов, промиелоцитов, более 20 % моноцитарный клеток, палочки Ауэра (+/-)	++	++
М5а острый монобластный лейкоз без дифференцировки	Более 80 % составляют монобласты, палочки Ауэра (-)	+/-	+++
М5в острый монобластный лейкоз с признаками дифференцировки	Монобластов менее 80%, преобладают промоноциты и моноциты, палочки Ауэра (+/-)	+/-	+++
М6 острый эритролейкоз	Миелобласты составляют более 30 % среди неэритроидных лейко, количество эритроидных предшественников более 50 %, палочки Ауэра в эритрокариоцитах (+)	-	-
М7 острый мегакариоцитарный лейкоз	Мегакариобластов более 30 %, мегакариоциты с признаками диспоэза, палочки Ауэра (-)	-	-

Позднее, по мере совершенствования иммунологических, цитогенетических методов диагностики, накопления клинических данных, классификация неоднократно дополнялась. В 2008 году рабочая группа Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), опираясь на совокупность данных морфологических, цитохимических, иммунологических и цитогенетических исследований, предложила использовать биологические характеристики клеток для разделения вариантов и оценки клинических особенностей ОМЛ. Каждые 4 года эта классификация пересматривалась с учетом появления новых данных и накопленного клинического опыта. В последней классификации ВОЗ было предложено

разделять ОМЛ на две основные категории: ОМЛ с определяющими генетическими аномалиями и ОМЛ по степени дифференцировки клеток (таблица 2) [Khoury et al. 2022]. Предполагается, что с накоплением новых генетических знаний вторая категория со временем исчерпает себя. В Международной консенсусной классификации (МКК) 2022 года было обновлено предыдущее пересмотренное четвертое издание классификации ВОЗ, внесены изменения в пороговые значения бластных клеток и генетические категории ОМЛ, а также проведено дальнейшее расширение спектра классификации по цитогенетическим и мутационным профилям ОМЛ (таблица 3).

Таблица 2

Классификация ОМЛ ВОЗ 2022 г.

ОМЛ с определяющими генетическими аномалиями
Острый промиелоцитарный лейкоз с PML::RARA
ОМЛ со слиянием RUNX1::RUNX1T1
ОМЛ со слиянием CBFB::MYH11
ОМЛ со слиянием DEK::NUP214
ОМЛ со слиянием RBM15:MRTFA
ОМЛ со слиянием BCR::ABL1
ОМЛ с реаранжировкой KMT2A
ОМЛ с реаранжировкой MECOM
ОМЛ с мутацией NPM1
ОМЛ с мутацией SEVPA
ОМЛ, связанный с миелодисплазией
ОМЛ с другими определяющими генетическими повреждениями
ОМЛ по степени дифференцировки
ОМЛ с минимальной дифференцировкой
ОМЛ без созревания
ОМЛ с созреванием
Острый базофильный лейкоз
Острый миеломоноцитарный лейкоз
Острый моноцитарный лейкоз
Острый эритролейкоз
Острый мегакариоцитарный лейкоз

Основное ключевое изменение в МКК 2022 года — это уменьшение порога бластных клеток при установлении диагноза с 20 % до 10 % для ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями. Исключение сделано только для ОМЛ с BCR-ABL1, где для установления диагноза требуется 20 % бластных клеток, чтобы избежать перекрытия с ХМЛ и для

ОМЛ с мутацией гена SEVPA. Кроме того, отдельная категория МДС/ОМЛ была введена для определенных генетических аномалий (таблица 3), с целью лучшего разделения пограничных случаев между МДС и ОМЛ, где количество бластных клеток в костном мозге и крови варьирует от 10 % до 19 %.

Международная консенсусная классификация ОМЛ 2022 г.

Категория ОМЛ (необходимый процент бластных клеток для установления диагноза)
Острый промиелоцитарный лейкоз ОПЛ с t(15;17)(q24.1;q21.2)/PML::RARA (≥10%)
Острый промиелоцитарный лейкоз ОПЛ с другими перестройками гена RARA (≥10%)
ОМЛ с t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1::RUNX1T1 (≥10%)
ОМЛ с inv(16)(p13.1q22) или t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB::MYH11 (≥10%)
ОМЛ с t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLLT3::KMT2A (≥10%)
ОМЛ с другими перестройками KMT2A (≥10%)
ОМЛ с t(6;9)(p22.3;q34.1)/DEK::NUP214 (≥10%)
ОМЛ с inv(3)(q21.3q26.2) или t(3;3)(q21q26)/GATA2::MECOM (≥10%)
ОМЛ с другими перестройками MECOM (≥10%)
ОМЛ с другими редкими повторяющимися транслокациями (≥10%)
ОМЛ с мутациями NPM1 (≥10%)
ОМЛ с мутациями in-frame bZIP СЕВРА (≥20%)
ОМЛ и МДС/ОМЛ с мутациями TP53 (МДС/ОМЛ) (10-19%) (ОМЛ) (≥20%)
ОМЛ и МДС/ОМЛ с МДС-ассоциированными мутациями (МДС/ОМЛ) (10-19%) (ОМЛ) (≥20%)
ОМЛ с МДС-ассоциированными цитогенетическими аномалиями (МДС/ОМЛ) (10-19%) (ОМЛ) (≥20%)
ОМЛ (NOS) (МДС/ОМЛ) (10-19%)(ОМЛ) (≥20%)
Миелоидная саркома

Важно отметить, что в классификации 2022 года категория ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями была расширена за счет включения всех вариантов транслокаций с перестройками генов RARA, KMT2A и MECOM, а также других редких повторяющихся транслокаций, в том числе: t(1;3)(p36.3;q21.3)/PRDM16::RPN1, t(3;5)(q25.3;q35.1)/NPM1::MLF1, t(8;16)(p11.2;p13.3)/KAT6A::CREBBP, t(1;22)(p13.3;q13.1)/RBM15::MRTF1, t(5;11)(q35.2;p15.4)/NUP98::NSD, t(11;12)(p15.4;p13.3)/NUP98::KMD5A, t(v;11)(v;p15.4)/NUP98, t(7;12)(q36.3;p13.2)/ETV6::MNX1, t(10;11)(p12.3;q14.2)/PICALM::MLLT10, t(16;21)(p11.2;q22.2)/FUS::ERG, t(16;21)(q24.3;q22.2)/RUNX1::CBFA2T3, inv(16)(p13.3q24.3)/CBFA2T3::GLIS2.

Недавние исследования показали, что in frame мутации гена СЕВРА, затрагивающие основную область лейциновой молнии (bZIP), обеспечивают благоприятный исход заболевания, независимо от того, встречаются они в биаллельном или моноаллельном варианте. В связи с этим, категория ОМЛ с мутацией СЕВРА пересмотрена в новой классификации и теперь она включает ОМЛ с любыми in frame мутациями bZIP СЕВРА.

Ещё одним изменением в МКК 2022 года является упразднение прежних категорий ОМЛ, связанных с миелодисплазией и предшествующей терапией. Недавние исследования показали, что генетические характеристики опухолевых клеток, а не анамнез заболевания имеют наибольшее значение для классификации биологически отличающихся ва-

риантов ОМЛ. С другой стороны, новые категории ОМЛ, связанные с МДС, а именно ОМЛ с мутацией гена TP53, ОМЛ с МДС-ассоциированными генными мутациями и ОМЛ с МДС-ассоциированными хромосомными аномалиями, выделены в новой структуре классификации. Накопившиеся данные указывают на то, что ОМЛ с мутацией TP53 представляет собой отдельный вариант с неблагоприятным прогнозом, как с клинической, так и с молекулярной точки зрения. Подавляющее большинство таких ОМЛ имеют сложные кариотипы, и примерно в половине наблюдений мутации TP53 возникают в отсутствие других мутаций, связанных с ОМЛ. В то же время, ОМЛ без мутации TP53, но с мутациями генов ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1 и/или ZRSR2, классифицируются как ОМЛ, ассоциированный с МДС-ассоциированными мутациями независимо от наличия в анамнезе предсуществующего МДС. МДС-ассоциированные мутации имеют неблагоприятный прогноз, в том числе в случае de novo ОМЛ. Новая категория ОМЛ с МДС-ассоциированными цитогенетическими aberrациями включает в себя наблюдения, ранее классифицированные как ОМЛ-MRC, но без мутации TP53 и других МДС-ассоциированных мутаций генов. В этих случаях в кариотипе определяются следующие аномалии: del(5q)/t(5q)/add(5q), -7/del(7q), +8, del(12p)/t(12p)/add(12p), i(17q),-17/add(17p)/del(17p), del(20q), idic(X)(q13) или комплексный кариотип. Остальные случаи ОМЛ выделяют как «неопределенный» или ОМЛ без дополнительных



Рис. 1. Иерархическая классификация международной консенсусной классификации ОМЛ (Адаптировано из статьи Dohner et al, Blood, 2022 vol.140, №12)

уточнений независимо от наличия или отсутствия мультилинейной дисплазии. Нужно отметить, что классификация 2022 года является иерархической, где ОМЛ-определяющие генетические аномалии из-за своего первостепенного влияния на фенотип и исход заболевания, имеют приоритетный статус над всеми остальными генетическими находками. В то же время, мутация гена TP53 имеет преимущество над мутациями других МДС-определяющих генных и цитогенетических aberrаций. При отсутствии всех генетических аномалий устанавливается диагноз

ОМЛ без дополнительных уточнений. Схема иерархической классификации приводится на рисунке 1.

Диагностика ОМЛ

Диагностика ОМЛ основывается на клинических и лабораторных данных, которые включают комплексную морфологическую, иммунофенотипическую и генетическую оценку опухолевых клеток. Основные лабораторные исследования, необходимые для установления диагноза и классификации ОМЛ представлены в таблице 4.

Таблица 4

Основные лабораторные исследования, необходимые для диагностики ОМЛ

Клинический анализ крови
Миелограмма
Трепанобиопсия костного мозга
Имунофенотипирование клеток опухоли с помощью проточной цитометрии
Генетические исследования: Стандартное цитогенетическое исследование Скрининг генных мутаций для установления диагноза и определения терапевтических мишеней: FLT3, IDH1, IDH2, NPM1, CEBPA, DDX41, TP53; ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, ZRSR2 Скрининг для выявления генных перестроек PML::RARA, RUNX1::RUNX1T1, BCR::ABL1, CBFB::MYH11, перестроек KMT2A, и других слитных генов (по возможности)

Цитологическое и цитохимическое исследование

Цитологическое исследование костного мозга является обязательной диагностической процеду-

рой и проводится вместе с цитохимическим исследованием микропрепарата костного мозга. Выполнение трепанобиопсии не является обязательным, за исключением ситуаций с так называемой «сухой

пункцией» или очень скудным пунктатом костного мозга. При цитологическом исследовании ведется подсчет не менее 200 лейкоцитов в мазках крови и 500 ядерных клеток в мазках костного мозга. Для установления диагноза ОМЛ пороговый уровень бластных клеток костного мозга или крови должен составлять 20 %, за исключением ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями, где пороговый уровень бластов снижен до 10 % (таблица 2). Миелобласты, монобласты и мегакариобласты включаются в подсчет бластных элементов. При ОМЛ с моноцитарной или миеломоноцитарной дифференцировкой эквивалентами бластов считаются монобласты и промоноциты. Для разграничения морфологических вариантов ОМЛ широко применяют данные цитохимического исследования бластных клеток, используя реакции на миелопероксидазу или судановый черный, неспецифическую эстеразу (альфа-нафтилацетатэстеразу, подавляемую или нет фторидом натрия) и PAS (Periodic Acid Schiff – шифф-йодную кислоту) (таблица 1). На основании морфоцитохимического исследования бластных клеток может быть диагностировано около 90 % случаев ОМЛ, при отсутствии активности МРО и неспецифической эстеразы необходимо проведение иммунофенотипического (ИФТ) исследования методом проточной цитометрии.

Иммунофенотипическое исследование

Одним из наиболее информативных методов диагностики ОМЛ является иммунофенотипическая характеристика клеток с использованием моноклональных антител, которая позволяет установить линейную направленность бластных клеток, стадию дифференцировки внутри каждой линии, а также диагностировать смешанные варианты острых лейкозов. Иммунофенотипирование с помощью многопараметрической проточной цитометрии проводится для точной диагностики ОМЛ путем идентификации миелоидных клеточных поверхностных и внутриклеточных антигенов на бластных клетках (таблица 5). Следует заметить, что ИФТ-исследование выполняется всегда на клетках костного мозга, даже при

высоком содержании бластных клеток в периферической крови. При этом, надо заметить, что подсчет бластных клеток методом ИФТ не является заменой морфологическому подсчету. Для подтверждения миелоидной направленности опухолевых клеток при ОМЛ необходимо оценить экспрессию миелоидных антигенов. Одним из линейно-специфических маркеров миелоидной линии является миелопероксидаза (МРО), лизосомальный фермент гранулоцитов. К менее специфичным антигенам миелоидной линии относятся CD11b, CD11c, CD13, CD15, CD16, CD33, CD64, CD65, CD66b, лизоцим и др. При этом диагноз ОМЛ может быть установлен и в том случае, если МРО не выявляется, а опухолевые клетки экспрессируют другие, менее специфичные миелоидные маркеры, но при этом исключен острый лимфобластный лейкоз. Бластные клетки следует считать положительными по экспрессии мембранного антигена, если он определен на ≥ 20 % бластов. В то же время для цитоплазматических маркеров (таких как CD3, МРО, лизоцим, TdT) используют более низкий порог – 10 %. В редких случаях, при невозможности получения аспирата и отсутствия циркулирующих бластов в крови, миелоидный фенотип может быть подтвержден с помощью иммуногистохимии. Иммунологические маркеры, характерные для разных морфологических вариантов ОМЛ, представлены в таблице 6. Кроме того, при проведении ИФТ важно определить лейкоз-ассоциированный иммунофенотип (ЛАИФ), сочетание антигенов, характерное для опухолевых клеток и не определяемое на нормальных гемопоэтических клетках. Примером ЛАИФ могут быть: обнаружение лимфоидных маркеров на клетках миелоидного происхождения (напр., CD7); повышенная экспрессия антигенов (например, CD33, CD34, CD99); сниженная экспрессия антигенов (например, CD38, HLA-DR); асинхронная коэкспрессия ранних и поздних антигенов (например, CD34 и CD11b). ЛАИФ в дальнейшем может использоваться для оценки минимальной остаточной (измеряемой) болезни [Lobanova et al. 2018].

Таблица 5

Поверхностные и внутриклеточные антигены клеток миелоидного ряда

Экспрессионные маркеры	
Маркеры незрелых клеток-предшественниц	CD34, CD117, HLA-DR
Маркеры клеток миелоидного ряда	цит.МРО, CD33, CD13
Маркеры зрелых миелоидных клеток	CD11b, CD15, CD64, CD65
Маркеры моноцитарного ряда	CD14, CD36, CD64, CD4, CD38, CD11c
Маркеры клеток мегакариоцитарного ряда	CD41, CD61, CD36
Маркеры клеток эритроидного ряда	CD235a, CD71, CD36

Иммунологические маркеры морфологических вариантов ОМЛ

Экспрессия антигенов кластеров дифференцировки									
Вариант ОМЛ	CD13	CD14	CD15	CD33	CD34	HLA-DR	CD41a	CD61	CD235a
M0	+/-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	-
M1	+/-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	-
M2	+	-	+/-	+	-/+	+	-	-	-
M3	+	-	-/+	+	-/+	-/+	-	-	-
M4	+	+/-	+/-	+	-/+	+	-	-	-
M5	+/-	+/-	+/-	+	-/+	+	-	-	-
M6	-	-		-/+	-	-	-	-	+/-
M7	+/-	-	-	+/-	-/+	-/+	+	+	-

Генетические исследования

Генетические методы наряду с морфологией и иммунофенотипированием занимают центральную позицию в диагностике и оценке прогноза ОМЛ. К ним относят большой спектр исследований – от стандартного кариотипирования и флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) до молекулярно-генетических тестов (ПЦР, секвенирование). Стандартное цитогенетическое исследование (кариотипирование) является обязательным на этапе диагностики ОМЛ. При этом хромосомные aberrации можно выявить примерно у половины пациентов с ОМЛ. Наиболее значимыми для прогноза заболевания являются: обнаружение специфических хромосомных нарушений; присутствие или отсутствие клональных аномалий; изменений модального числа хромосом. При этом обнаружение повторяющихся генетических аномалий является достаточным для установления диагноза ОМЛ при наличии $\geq 10\%$ или $\geq 20\%$ бластных клеток в костном мозге (таблица 3). Для определения кариотипа достоверным считается исследование как минимум 20 метафаз. Аномалии кариотипа можно определить и на основании исследования клеток периферической крови. Дальнейшее мониторинг выявленных при первичном исследовании хромосомных aberrаций позволяет оценить полноту достигнутого эффекта терапии. Определение тех или иных цитогенетических aberrаций уже на момент диагностики ОМЛ может определить терапевтическую тактику для конкретного пациента. При невозможности проведения кариотипирования, FISH и, отчасти, ОТ-ПЦР являются альтернативой для обнаружения специфических хромосомных аномалий, таких как слияние генов RUNX1::RUNX1T1, CBFB::MYH11, перестроек генов KMT2A и MECOM или связанных с миелодисплазией хромосомных aberrаций (моносомий и делеций хромосом 5, 7, 17 и др.). Кроме того, возможно также проведение FISH на морфологических и гистологических препаратах костного мозга.

При молекулярно-генетическом тестировании необходимо выявить все генетические аномалии, которые определяют категории заболевания и риска, а также необходимы для таргетной терапии (NPM1, CBFA, FLT3), в том числе TP53 и МДС-ассоциированные гены (таблица 4). Молекулярные тесты могут быть выполнены с помощью панелей или платформ для тестирования мутаций и реаранжировок. Экспрессия генов EVI1, BAALC, WT1, ERG, MN1, мутации генов RUNX1, MLL, KIT, RAS, TET2, IDH1 исследуются в рамках клинических исследований. Молекулярный скрининг на указанные маркеры может быть использован как вспомогательный метод при отсутствии результатов СЦИ. В современной молекулярной диагностике ОМЛ широко применяется и метод секвенирования нового поколения, созданы так называемые диагностические панели из нескольких десятков генов, вовлеченных в патогенез ОМЛ, которые позволяют четко отнести исследуемый ОМЛ к той или иной категории риска. При подозрении на ОМЛ с зародышевой предрасположенностью следует использовать специальную панель генов с известными предрасполагающими аллелями. Всем пациентам, у которых имеется информация о наличии лейкоз-ассоциированного aberrантного иммунофенотипа или наличии молекулярного маркера (выявленных на момент диагностики ОМЛ), необходимо проводить ИФТ-исследование или молекулярно-генетическое исследование МОБ при помощи пациент-специфичных праймеров (количественную оценку экспрессии генов RUNX1-RUNX1T1, CBFB-MYH11, NPM1) для контроля за лечением и определения тактики терапии.

На основе генетических биомаркеров ОМЛ стратифицирован на три группы риска (таблица 7) [Dohner et al. 2022].

Стратификация ОМЛ на основе генетических биомаркеров

Группы риска	Генетические аномалии
Благоприятная	t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1::RUNX1T1, inv(16)(p13.1q22) или t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB::MYH11 Мутации NPM1 без FLT3-ITD bZIP in-frame мутация СЕВРА
Промежуточная	Мутация NPM1 с FLT3-ITD, wt NPM1 с FLT3-ITD Транслокация t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLLT3::KMT2A Остальные цитогенетические аномалии, не классифицированные как благоприятные или неблагоприятные
Неблагоприятная	t(6;9)(p23;q34.1)/DEK::NUP214 t(v;11q23.3)/KMT2A t(9;22)(q34.1;q11.2)/BCR::ABL1 t(8;16)(p11;p13)/KAT6A::CREBBP t(3;3)(q21.3;q26.2)/inv(3)(q21.3q26.2)/GATA2::MECOM t(3;v)(q26.2;v)/MECOM -5/5q-; -7; -17/abn(17p) Комплексный кариотип, моносомный кариотип Мутации генов ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, ZRSR1 Мутации TP53

В группу ОМЛ благоприятного риска входят такие генетические аномалии, как транслокация t(8;21), инверсия inv(16)/t(16;16), мутации NPM1 без FLT3-ITD, а также биаллельные и моноаллельные in-frame мутации СЕВРА. Транслокации t(6;9), t(9;22), t(3;3)/inv(3), t(v;11q23), моносомии/делеции хромосом 5,7,17, комплексный и моносомный кариотипы входят в неблагоприятную группу. В 2022 году эта группа расширена за счет новых генетических аберраций: транслокаций t(8;16)/KAT6A::CREBBP, транслокаций с перестройкой гена MECOM, мутаций гена TP53, а также МДС-ассоциированных мутаций.

Терапия

Целью программной химиотерапии является достижение полной ремиссии на этапе индукции с последующим контролем и, по возможности, искоренение ОМЛ или максимальной продолжительности ответа на этапах консолидации и поддерживающей терапии, включая аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), как наиболее часто показанного метода терапии.

Рекомендуется отложить начало химиотерапии для стабилизации состояния пациентов и/или до получения результатов всех лабораторных исследований, что позволит более детально характеризовать заболевание и определить правильную тактику терапии. Отсрочка индукционной терапии на короткий период (5–7 дней) не оказывает негативное влияние на эффективность терапии, показатели ранней летальности, долгосрочную выживаемость.

При наличии гиперлейкоцитоза (лейкоцитов $>100 \times 10^9/\text{л}$) рекомендуется проведение немедленной циторедукции. Гидроксикарбамид в дозе 50–100 мг/кг в день используется для снижения лейкоцитов $<25 \times 10^9/\text{л}$ и/или лейкоцитаферезы.

Если пациент не в состоянии перенести интенсивную или даже неинтенсивную индукционную терапию, тогда целью лечения становится оптимизация качества жизни и снижение частоты осложнений, связанных с ОМЛ, заместительная гемотрансфузионная терапия и другие виды поддерживающего лечения.

Химиотерапия является основой лечения ОМЛ,

интенсивность и продолжительность которой зависит от варианта ОМЛ, возраста пациента, коморбидного статуса, молекулярно-генетических характеристик лейкоза и возможности проведения адекватной специфической и сопроводительной терапии.

Ввиду необходимости учёта возраста при проведении химиотерапии, в Российских национальных клинических рекомендациях по лечению ОМЛ, также как и во многих протоколах других исследовательских групп, выполнено подразделение всех пациентов на две когорты: младше и старше 60 лет. Пациенты старшей возрастной группы составляют большую часть всех случаев ОМЛ, но проведение у них интенсивной ХТ, направленной на излечение заболевания, чаще всего ограничено в связи с низким соматическим статусом, наличием значимой сопутствующей патологии и высоким риском развития тяжёлых осложнений.

Пациенты, которым возможно проведение интенсивной химиотерапии

Химиотерапия, направленная на индукцию ремиссии, занимает особое место в лечении ОМЛ, поскольку определяет долгосрочный прогноз для конкретного пациента, возможность, необходимость и степень интенсивности последующей терапии, сроки выполнения алло-ТГСК.

В течение нескольких десятилетий и до настоящего времени стандартом индукции ОМЛ является сочетание цитарабина в дозе 100–200 мг/м² в сутки, 7 дней, с антрациклином (даунорубин 60 мг/м² или идарубин 12 мг/м² или митоксантрон 12 мг/м²), 3 дня. [Савченко и др. 2016, Грицаев и др. 2017].

Частота достижения ПР после первого курса индукционной терапии составляет около 70 % по разным данным. Назначение второго аналогичного курса [Othus et al. 2016] или высоких доз цитарабина как в монорежиме, так и в сочетании с антрациклинами, позволяет достичь ПР еще у 10–15% пациентов [Lowenberg et al. 2013, Thol et al. 2015].

Проведение курса FLAG-Ida (флударабин, цитарабин, идарубин и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ)) в индукции позволило увеличить число ремиссий после первого курса

до 77 %, что на 10 % выше результатов контрольной группы, а также снизить число рецидивов, однако это не привело к увеличению общей выживаемости [Burnett et al. 2013].

Включение ингибитора киназы мидостаурина в терапию первой линии для пациентов с ОМЛ с мутацией FLT3 является стандартом. Мидостаурин улучшал 4-летнюю общую выживаемость на 7,1 %, с 44,3 % до 51,4 %, при сочетанном использовании в индукции даунорубицин-цитарабин и консолидации высоких доз цитарабина у пациентов в возрасте 18-59 лет. У пациентов в возрасте до 70 лет в проспективном нерандомизированном исследовании мидостаурин также показал положительный эффект у по сравнению с исторической контрольной группой [Larson et al. 2021].

Гемтузумаб-озогамицин (ГО) представляет собой гуманизированное антитело IgG4 к CD33, химически связанное с цитотоксическим калихеамицином. В рамках исследования 3 фазы ALFA-0701 278 пациентов с впервые выявленным ОМЛ доза ГО была по 3 мг/м² (не выше 5 мг), препарат вводился в 1, 4 и 7 день во время индукции ремиссии и одно ведение во время консолидации [Castaigne et al. 2012, Godwin et al. 2017]. Частота полных ремиссий была одинаковой в исследуемой и контрольной группе, однако медиана бессобытийной выживаемости была выше в группе ГО (19,6 против 11,9 месяцев, $p = 0,00018$), также как и медиана общей выживаемости (34 против 19,2 месяцев, $p = 0,046$). Анализ подгрупп показал, что эффективность препарата была выше в благоприятной и промежуточной группах риска по данным цитогенетического исследования [Godwin et al. 2017]. Мета-анализ пяти исследований ГО фазы 3, включающих 3325 пациентов с ОМЛ, выявил значительное снижение частоты рецидивов и улучшение общей выживаемости без повышения токсичности в благоприятной и промежуточной группах риска при назначении ГО в дозе 3 мг/м² вместо 6 мг/м² [Hills et al. 2014].

Отсутствие полной ремиссии после первого курса индукции не расценивается как первичная химиорезистентность, однако этот факт ухудшает 3-летнюю общую выживаемость, 23 % против 56 %, соответственно, даже несмотря на проведение алло-ТГСК. Ответ на курс ХТ индукции зависит от исходных факторов риска ОМЛ. Так, в группе благоприятного прогноза ОМЛ вероятность достижения полной ремиссии после первого курса составляет 90 %, промежуточного 70 %, неблагоприятного 55 % [Walter et al. 2015], при этом риск рецидива равен 35-40 %, 50-55 % и 70-80 %, соответственно. [Cornelissen et al. 2012].

Консолидация

После достижения полной ремиссии используются 3-4 курса средних (1-1,5 мг/м²) или высоких (3 мг/м²) доз цитарабина. При последовательном введении цитарабина в 1-3 дни, а не через день (1, 3 и 5

дни), отмечается ускоренное восстановление периферических показателей крови.

Несмотря на использование некоторыми центрами высоких доз цитарабина, более высокая токсичность данной схемы и отсутствие улучшения долгосрочной выживаемости у пациентов являются аргументами против их дальнейшего использования.

В Российских национальных клинических рекомендациях по лечению ОМЛ оговаривается, что при отсутствии возможности выполнить высокодозную консолидацию как дополнительный вариант может рассматриваться выполнение еще 2 курсов «7 + 3» с идарубицином или митоксантроном в индукционных дозах. Пациентам, получающим в периоде индукции химиотерапию с ингибитором FLT3 (мидостаурин), в консолидации данный препарат тоже должен быть включен.

В дополнение к исходным факторам риска, оценка минимальной остаточной болезни рекомендуется для пациентов с ОМЛ в первой ремиссии для обоснования выбора консолидирующей терапии. А именно, при вероятном риске рецидива, превышающем 35-40 %, на этапе консолидации алло-ТГСК остается предпочтительным вариантом. К ним относятся пациенты с ОМЛ с неблагоприятным риском заболевания и персистирующей минимальной остаточной болезнью.

Поддерживающая терапия

Поддерживающая терапия проводилась в течение определенного периода времени у пациентов, достигших ремиссии после интенсивной химиотерапии, которая обычно менее токсична и назначается с целью снижения риска рецидива. Рекомендовано проведение поддерживающей терапии для пациентов, которые не являются кандидатами на выполнение алло-ТГСК.

Пациенты, получавшие мидостаурин во время индукции и консолидации, могут продолжать прием этого препарата в течение 12 месяцев в качестве поддержки.

Поддерживающая цитостатическая (гипометилирующая или таргетная) терапия должна выполняться в течение как минимум 1 года от начала лечения (4 курса индукции/консолидации и 6 курсов поддерживающей терапии) или в течение 2 лет от начала терапии (4 курса индукции/консолидации и 9-12 курсов поддерживающей терапии).

Пациенты, которым невозможно проведение интенсивной химиотерапии

Не существует общепринятых или утвержденных критериев, позволяющих считать пациента непригодным для интенсивной химиотерапии. В рамках клинических испытаний были использованы критерии, рассматривающие пациента как не подходящего для интенсивной химиотерапии, которые также могут служить руководством в реальной практике:

- Возраст ≥ 75 лет – однако это не может быть аб-

солютным критерием; например, пациенты с более благоприятным течением заболевания и без соответствующих сопутствующих заболеваний могут получить пользу от интенсивной химиотерапии;

- Статус производительности ECOG >2;
- Возрастные сопутствующие заболевания, такие как тяжелое сердечное расстройство (например, застойная сердечная недостаточность, требующая лечения, фракция выброса $\leq 50\%$ или хроническая стабильная стенокардия); тяжелое заболевание легких (например, $DLCO \leq 65\%$ или $FEV1 \leq 65\%$); клиренс креатинина < 45 мл/мин; печеночная недостаточность с общим билирубином более чем в 1,5 раза выше верхней границы нормы; любые другие сопутствующие заболевания, которые врач оценивает как несовместимые с интенсивной химиотерапией.

Существенный прогресс был достигнут в лечении пациентов, которым невозможно проведение интенсивной химиотерапии. По сравнению с монотерапией азациитидином (децитабином), добавление ингибитора VCL-2 (венетоклакс) улучшало клинический ответ до 66,4 % против 28,3 % и медиану

общей выживаемости 14,7 против 9,6 месяцев, соответственно. Для пациентов, которые не могут получать гипометилирующий агент, альтернативным вариантом лечения являются низкие дозы цитарабина (НЦД) в сочетании с венетоклаксом или без него.

Рецидивирующий и рефрактерный ОМЛ

Примерно у 60–70 % пациентов, у которых достигнута полная ремиссия ОМЛ, в течение 3 лет развивается рецидив заболевания. В целом прогноз у пациентов при развитии рецидива неблагоприятен и терапевтических подходов крайне мало. Пациенты с очень ранним рецидивом (длительностью ремиссии менее полугода), неблагоприятными цитогенетическими аномалиями и возрастом >45-55 лет имеют плохой прогноз.

Варианты лечебной тактики: 1) проведение химиотерапии, направленной на «излечение», с использованием алло-ТГСК (таблица 8); 2) включение в клиническое исследование по применению новых лекарственных препаратов; 3) паллиативная терапия.

Таблица 8

Схемы химиотерапии при рецидивирующем и рефрактерном ОМЛ.

<ul style="list-style-type: none"> • Средние дозы цитарабина (с или без антрациклинов) для пациентов, не ответивших на первый курс «7+3»; • не следует использовать у пациентов с рецидивом в течение 6 месяцев после консолидации с средневысокими дозами цитарабина. 	<ul style="list-style-type: none"> • цитарабин 1000–1500 мг/м² в/в в течение 3 ч. каждые 12 ч., 1–3 дн. (у пациентов ≥ 60 лет доза 500–1000 мг/м²); • даунорубин 60 мг/м² в/в 1-3 дн.; • идарубин 8-10 мг/м² в/в 3-5 дн.; митоксантрон 8-10 мг/м² в/в 1-3 дн.
FLAG-Ida(Mito)	<ul style="list-style-type: none"> • флударабин 30 мг/м² в/в 2-6 дн.; • цитарабин 1500–2000 мг/м² в/в в течение 3 ч., начиная с 4 ч. после инфузии флударабина, 2–6 дн.; • идарубин (митоксантрон) 10 мг/м² в/в 2-4 дн.; • Г-КСФ 5 мкг/кг п/к 1-5 дн.; дополнительный Г-КСФ может быть вводится через 7 дней после окончания химиотерапии до Лейк$>0,5 \times 10^9$/л. <p>у пациентов >60 лет:</p> <ul style="list-style-type: none"> • флударабин 20 мг/м²; • цитарабин 500-1000 мг/м²; • идарубин 8 мг/м²
MEC	<ul style="list-style-type: none"> • митоксантрон 8 мг/м² в/в 1-5 дн.; • этопозид 100 мг/м² в/в 1-5 дн.; • цитарабин 1000 мг/м² в/в 1-5 дн.
CLAG-M	<ul style="list-style-type: none"> • кладрибин 5 мг/м² в/в 1–5 дн.; • цитарабин 2000 мг/м² в/в 1-5 дн. (начиная через 2 ч. после инфузии кладрибина); • митоксантрон 10 мг/м² в/в 1-3 дн.; • Г-КСФ 300 мкг подкожно 0–5 дн.

Пациенты, не достигшие ремиссии после двух курсов индукции (включая, по крайней мере, один курс цитарабина в средней дозе), расцениваются как пациенты с первично-рефрактерным ОМЛ. Маловероятно, что дальнейшая интенсивная поли-

химиотерапия окажется успешной, целесообразно направить пациентов для участия в клинических испытаниях или рассмотреть вопрос об алло-ТГСК.

При клиническом прогрессировании важно подчеркнуть возможность клональной эволюции.

Таким образом, повторная молекулярная оценка (мутация FLT3) при рецидиве обязательна для выявления пациентов, которым может подойти таргетный препарат (гилтеритиниб). Гилтеритиниб был одобрен на основании рандомизированного исследования, показавшего выше частоту полных ремиссий – 21,1 % против 10,5 % и медиану общей выживаемости 9,3 против 5,6 месяца по сравнению с резервной химиотерапией [Perl et al. 2019].

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Алло-ТГСК первоначально рассматривалась как метод спасения, обеспечивающий восстановление нормального гемопоэза после летальных доз облучения или ХТ [Mathe et al. 1959, Thomas et al. 1964, Mathe 1965]. Первые алло-ТГСК выполнялись пациентам с резистентным течением лейкоза. Для эрадикации опухолевого клона и обеспечения иммунологической толерантности для приживания трансплантата использовалась высокая доза тотального облучения тела (ТОТ). Впоследствии к ТОТ был добавлен циклофосфамид (Цф) с целью профилактики синдрома лизиса опухоли. В течение многих лет комбинация Цф и ТОТ использовалась в качестве миелоаблативного режима кондиционирования (МАК) при алло-ТГСК пациентам со злокачественными заболеваниями системы крови [Thomas et al. 1977].

В поисках усиления антилейкемического действия в схемы вошел альтернативный МАК – комбинация перорального бусульфана (Бу) и Цф [Tutschka et al. 1980, 1983]. Однако 4 рандомизированных исследования по сравнению ТОТ с Цф и ЦфБу, не показали каких-либо различий в ОВ и БРВ [Socie et al. 2001].

Дальнейшие попытки интенсификации режима кондиционирования (РК) путем увеличения дозы ТОТ или включения дополнительных лекарственных препаратов оказались неэффективны, поскольку усиление антилейкемического эффекта сопровождалось увеличением ЛНР [Clift et al. 1990, Petersen et al. 1989].

Однако использование МАК значительно ограничивает возможности проведения алло-ТГСК пациентам старшего возраста и/или имеющим низкий соматический статус. Это обстоятельство потребовало пересмотра существующих подходов и внедрения новых, менее токсичных РК.

Поиск наиболее эффективных РК с редуцированной интенсивностью (РИК) осуществлялся несколькими ведущими трансплантационными центрами. До настоящего времени основными вариантами являются флударабин (Флу) в сочетании с мелфаланом MD Anderson Cancer Center, с Бу Hadassah University Hospital и Флу с ТОТ в редуцированной дозе [Giralt et al. 1997, Slavin et al. 1998, Khouri et al. 1998, Storb et al. 2001, Niederwieser et al. 2000].

Режим профилактики реакции «трансплантат

против хозяина» (РТПХ) циклоспорин А и метотрексат до настоящего времени применяется в большинстве трансплантационных центров. Замена циклоспорина А на другой препарат, обладающий сходным по механизму действием, такролимус, не превзошло по эффективности первоначальную комбинацию [Станкевич 2011].

Планирование аллоТГСК помимо выбора РК включает в себя и выбор режима профилактики РТПХ, возникающей в результате воздействия зрелых Т-лимфоцитов донора на клетки реципиента [Thomas et al. 1964]. Однако расцвет такого вида трансплантаций стал возможен благодаря применению метода профилактики РТПХ с использованием посттрансплантационного циклофосфамида (ПТЦф), предложенного Luznik [Luznik et al. 2001, O'Donnell et al. 2002]. Профилактика РТПХ с ПТЦф позволила отказаться от необходимости дополнительных манипуляций с трансплантатом *ex vivo*, что значительно расширило возможности использования гаплоидентичных аллоТГСК, а также привела к снижению до 6 % частоты тяжелой оРТПХ III-IV степени [Luznik et al. 2008]. Немаловажно, что также было отмечено и уменьшение частоты развития распространенных форм хрРТПХ [Vacigalupo et al. 2015]. Успешное использование ПТЦф при гаплоидентичных трансплантациях в последующем стало применяться и при аллоТГСК от HLA-совместимых доноров, как родственных, так и неродственных [Luznik et al. 2010, Пирогова 2016, Моисеев 2019].

Таким образом, достижения, позволяющие использовать частично HLA-несовместимых неродственных доноров и гаплоидентичных доноров, означают, что для большинства нуждающихся пациентов можно найти аллогенного донора. Режимы кондиционирования с пониженной интенсивностью делают возможным алло-ТГСК для пациентов в возрасте до 80 лет в опытных центрах.

Решение о проведении алло-ТГСК в первой ремиссии зависит от соотношения риска и пользы (летальности, не связанной с рецидивом и инвалидностью / снижение риска рецидива). Алло-ТГСК следует рассматривать, когда прогнозируемая вероятность рецидива составляет >35-40 % [Cornelissen et al. 2016]. Для пациентов с благоприятным прогностическим риском алло-ТГСК в первой ремиссии не рекомендуется, за исключением пациентов с неадекватным клиренсом минимальной остаточной болезни. Алло-ТГСК рекомендуется для пациентов с ОМЛ с неблагоприятным риском и для большинства пациентов с промежуточным риском, хотя довольно много центров полагаются на наличие МОБ при принятии решения прогнозируемого риска рецидива [Паровичникова и соавторы 2018]. Для пациентов в возрасте ≥60 лет алло-ТГСК в первой ремиссии рекомендуется для пациентов промежуточного или неблагоприятного риска, желающих и способных пройти химиотерапию. Алло-ТГСК является един-

ственной лечебной терапией для пациентов с первично рефрактерным ОМЛ и улучшает долгосрочную выживаемость у пациентов во второй ремиссии ОМЛ [Heinicke et al. 2021].

Выполнение алло-ТГСК пациентам в первой ремиссии возможно после двух курсов интенсивной химиотерапии. Не получено данных о том, что дополнительная химиотерапия перед трансплантацией уменьшает риск рецидива, даже независимо от состояния МОБ до трансплантации.

Растет интерес к использованию терапии после трансплантации для предотвращения рецидива ОМЛ. Рандомизированные исследования показывают, что у пациентов с ОМЛ с мутацией FLT3 после алло-ТГСК поддерживающая терапия сорафенибом снижает риск рецидива [Burchert et al. 2020]. В настоящее время проводится исследование, изучающее преимущества посттрансплантационной поддерживающей терапии гилтеритинибом и мидостаурином.

Рецидив является основной причиной неудачи

после алло-ТГСК у пациентов с ОМЛ. До 90 % рецидивов развивается в течение первых 2-х лет после алло-ТГСК. Исход у пациентов с рецидивом в течение 12 месяцев очень плохой, однако отмена иммуносупрессивных препаратов и/или инфузии донорских лимфоцитов может привести к повторной ремиссии. При ОМЛ с мутацией FLT3 и посттрансплантационным рецидивом гилтеритиниб является предпочтительным вариантом терапии. Применение азациитидина с инфузией донорских лимфоцитов или без, а также терапия венетоклакс-содержащими схемами может привести к достижению повторной ремиссии у небольшой части пациентов с меньшей токсичностью, чем интенсивная химиотерапия. Для таких пациентов дальнейший выбор терапии – либо инфузия донорских лимфоцитов, либо повторная алло-ТГСК со сменой донора.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bacigalupo A. Unmanipulated haploidentical bone marrow transplantation and post-transplant cyclophosphamide for hematologic malignancies following a myeloablative conditioning: an update / A. Bacigalupo, A. Dominiotto, A. Ghiso, C. Di Grazia, T. Lamparelli et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2015. – Vol. 50, № 2. – P. 37–39.
2. Burchert A., Bug G., Fritz L.V. et al. Sorafenib maintenance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia with FLT3-internal tandem duplication mutation (SORMAIN) // *J Clin Oncol.* – 2020. – Vol. 38, N 26. – P. 2993–3002.
3. Burnett A.K. Optimization of chemotherapy for younger patients with acute myeloid leukemia: results of the medical research council AML15 trial / A.K. Burnett, N.H. Russell, R.K. Hills, A.E. Hunter, L. Kjeldsen et al. // *J Clin Oncol.* – 2013. – Vol. 31, N 27. – P. 3360–3368.
4. Castaigne S. Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo acute myeloid leukemia (ALFA-0701): A randomised, open-label, phase 3 study / S. Castaigne, C. Pautas, C. Terré, E. Raffoux, D. Bordessoule et al. // *Lancet.* – 2012. – Vol. 379, N 9825. – P. 1508–1516.
5. Clift R.A. Allogeneic marrow transplantation in patients with acute myeloid leukemia in first remission: a randomized trial of two irradiation regimens / R.A. Clift, C.D. Buckner, F.R. Appelbaum, S.I. Bearman, F.B. Petersen et al. // *Blood.* – 1990. – Vol. 76, № 9. – P. 1867–1871.
6. Cornelissen J.J., Blaise D. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with AML in first complete remission // *Blood.* – 2016. – Vol. 127, N 1. – P. 62–70.
7. Cornelissen, J.J. The European LeukemiaNet AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach / J.J. Cornelissen A., Gratwohl, R.F. Schlenk, J. Sierra, M. Bornhäuser et al. // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2012. – Vol. 9, N 10. – P. 579–590.
8. Döhner H., Weber D., Krzykalla J. et al. Midostaurin plus intensive chemotherapy for younger and older patients with AML and FLT3 internal tandem duplications // *Blood Adv.* – 2022 29: bloodadvances.2022007223.
9. Dohner H., Wei A.H., Appelbaum F.R. et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN // *Blood.* – 2022. – Vol. 140, N 12. – P. 1345–1377.
10. Giralto, S. Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: Harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy / S. Giralto, E. Estey, M. Albtar, K. van Besien, G. Rondon et al. // *Blood.* – 1997. – Vol. 89, № 12. – P. 4531–4536.
11. Godwin, C.D. Gemtuzumab ozogamicin in acute myeloid leukemia / C.D. Godwin, R.P. Gale, R.B. Walter // *Leukemia.* – 2017. – Vol. 31, № 9. – P. 1855–1868.
12. Hills, R.K. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukemia: A meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials / R.K. Hills, S. Castaigne, F.R. Appelbaum, J. Delaunay, S. Petersdorf et al. // *Lancet Oncol.* – 2014. – Vol. 15, № 9. – P. 986–996.
13. Khouri, I.F. Transplant-lite: induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies / I.F. Khouri, M. Keating, M. Körbling, D. Przepiorka, P. Anderlini et al. // *J Clin Oncol.* – 1998. – Vol. 16, № 8. – P. 2817–2824.
14. Khoury J.D., Solar E., Abla O., et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumors: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms // *Leukemia.* – 2022. – 36. – 1703–1719.

15. Larson RA, Mandrekar SJ, Huebner LJ, et al. Midostaurin reduces relapse in FLT3-mutant acute myeloid leukemia: the Alliance CALGB 10603/RATIFY trial // *Leukemia*. – 2021. – Vol. 35, N9. – P. 2539–2551.
16. Lobanova T.I., Galtseva I.V., Parovichnikova E.N. Minimal residual disease assessment in patients with acute myeloid leukemia by multicolour flow cytometry (literature review) // *Onkogematologiya*. – 2018. –13(1). – 83–102.
17. Lowenberg, B. Sense and nonsense of high-dose cytarabine for acute myeloid leukemia. / B.Lowenberg // *Blood*. – 2013. – Vol. 121, № 1. – P. 26–28.
18. Luznik, L. Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplantation cyclophosphamide / L. Luznik, S. Jalla, L.W. Engstrom, R. Iannone, E.J. Fuchs // *Blood*. – 2001. – Vol. 98, № 12. – P. 3456–3464.
19. Luznik, L. High-dose cyclophosphamide as single-agent, short-course prophylaxis of graft-versus-host disease / L. Luznik, J. Bolaños-Meade, M. Zahurak, A.R. Chen, B.D. Smith et al. // *Blood*. – 2010. – Vol. 115, № 16. – P. 3224–3230.
20. Luznik, L. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide / L. Luznik, P.V. O'Donnell, H.J. Symons, A.R. Chen, M.S. Leffell et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant*. – 2008. – Vol. 14, № 6. – P. 641–650.
21. Mathe, G. Haematopoietic chimera in man after allogeneic (homologous) bone-marrow transplantation. (Control of the secondary syndrome. Specific tolerance due to the chimerism). / G. Mathe, J.L. Amiel, L. Schwarzenberg, A. Cattani, M. Schneider // *Br. Med. J.* – 1963. – Vol. 2, № 5373. – P. 1633–1635.
22. Mathe, G. Transfusions and grafts of homologous bone marrow in humans after accidental high dosage irradiation / G. Mathe, H. Jammet, B. Pendic L. Schwarzenberg, J.F. Duplan et al. // *Rev. Franc. Etud.Clin.Biol.* – 1959. – Vol. 4, № 3. – P. 226–238.
23. Niederwieser, D. Allogeneic unrelated hematopoietic stem cell transplants (HSCT) after conditioning with 2 Gy total body irradiation (TBI), fludarabine (FLU) and a combination of cyclosporine (CSP) and mycophenolate mofetil (MMF) in patients ineligible for conventional transplants / D.Niederwieser, M. Maris, U. Hegenbart et al. // *Blood*. – 2000. – Vol. 96. – P. 413a.
24. O'Donnell, P.V. Nonmyeloablative bone marrow transplantation from partially HLA-mismatched related donors using posttransplantation cyclophosphamide / P.V. O'Donnell, L. Luznik, R.J. Jones, G.B. Vogelsang, M.S. Leffell et al. // *Biol Blood Marrow Transplant*. – 2002. – Vol. 8, № 7. – P. 377–386.
25. Othus, M. Prediction of CR following a second course of '7+3' in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia not in CR after a first course / M. Othus, S. Mukherjee, M.A. Sekeres, J. Godwin, S. Petersdorf et al. // *Leukemia*. – 2016. – Vol. 30, № 8. – P. 1779–1780.
26. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, et al. Gilteritinib or chemotherapy for relapsed or refractory FLT3-mutated AML // *N Engl J Med*. – 2019. – Vol. 381, N 18. – P. 1728–1740.
27. Petersen, F.B. Busulfan, cyclophosphamide and fractionated total body irradiation as a preparatory regimen for marrow transplantation in patients with advanced hematological malignancies: a phase I study / F.B. Petersen, C.D. Buckner, F.R. Appelbaum, R.A. Clift, J.E. Sanders et al. // *Bone Marrow Transplant*. – 1989. – Vol. 4, № 6. – P. 617–623.
28. Slavin, S. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases / S. Slavin, A. Nagler, E. Naparstek, Y. Kapelushnik, M. Aker et al. // *Blood*. – 1998 Feb 1. – Vol. 91, № 3. – P. 756–763.
29. Socie, G. Busulfan plus cyclophosphamide compared with total-body irradiation plus cyclophosphamide before marrow transplantation for myeloid leukemia: long-term follow-up of 4 randomized studies / G. Socie, R.A.Clift, D. Blaise, A. Devergie, O. Ringden et al. // *Blood*. – 2001. – Vol. 98, № 13. – P. 3569–3574.
30. Storb, R.F. Non-myeloablative transplants for malignant disease / R.F. Storb, R. Champlin, S.R. Riddell, M. Murata, S. Bryant et al. // *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. – 2001. – P. 375–391.
31. Thol, F. How I treat refractory and early relapsed acute myeloid leukemia / F. Thol, R.F. Schlenk, M. Heuser, A. Ganser // *Blood*. – 2015. – Vol. 126, № 3. – P. 319–327.
32. Thomas, E.D. Long-term survival of lethally irradiated dogs given homografts of bone marrow / E.D. Thomas, G.L. Plain, T.C. Graham, J.W. Ferrebee // *Blood*. – 1964. – Vol. 23. – P. 488–493.
33. Thomas, E.D. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation / E.D. Thomas, C.D. Buckner, M. Banaji, R.A. Clift, A. Fefer et al. // *Blood*. – 1977. – Vol. 49, № 4. – P. 511–533.
34. Tutschka, P.J. Marrow transplantation in acute leukemia following busulfan and cyclophosphamide / P.J. Tutschka, G.W. Santos, G.J. Elflein // *Haematol Blood Transfus*. – 1980. – Vol. 25. – P. 375–380.
35. Walter, R.B. Number of courses of induction therapy independently predicts outcome after allogeneic transplantation for acute myeloid leukemia in first morphological remission / R.B. Walter, B.M. Sandmaier, B.E. Storer et al. // *Biol Blood Marrow Transplant*. – 2015. – Vol. 21, № 2. – P. 373–378.
36. Ахмерзаева, З.Х. Эпидемиологическое исследование острых лейкозов в пяти регионах Российской Федерации / З.Х. Ахмерзаева, Е.Н. Паровичникова, М.А. Русинов и др. // *Гематология и трансфузиология*. – 2017. – Т. 62, № 1. – С. 46–51.
37. Грицаев, С.В. Сравнительный анализ эффективности даунорубицина (45 мг/м²) и идарубицина у больных острым миелоидным лейкозом de novo при проведении первого индукционного курса / С.В. Грицаев, И.И. Кострома, И.М. Запорева, и др. // *Вестник гематологии*. – 2017. – Т. 13, № 3. – С. 24–25.
38. Моисеев, И.С. Совершенствование методов профилактики и лечения реакции «трансплантат против хозяина»: автореф. дис. ... док. мед. наук: 14.01.21 / Моисеев Иван Сергеевич; [Место защиты: Пер. С. – Петерб. гос. мед.

ун-т им. И.П. Павлова]. – СПб., 2019. – 47 с.

39. Паровичникова, Е.Н. Результаты программной терапии острых миелоидных лейкозов в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. / Е.Н. Паровичникова, И.А. Лукьянова, В.В. Троицкая и др. // Терапевтический архив. – 2018. – Т. 90, № 7. – С. 14–22.

40. Пирогова, О.В. Использование циклофосфида для профилактики реакции трансплантат против хозяина после аллогенной неродственной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.21 / Пирогова Ольга Владиславовна; [Место защиты: Пер. С. –Петерб. гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова]. – СПб., 2016. – 34 с.

41. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Афанасьев Б.В., и др. Национальные клинические рекомендации по лечению острых миелоидных лейкозов взрослых. Гематология и трансфузиология. – 2014. – 59 (1–S2). – 2–29.

42. Савченко, В.Г. Долгосрочные результаты лечения больных ОМЛ по протоколу ОМЛ-10: Российское многоцентровое рандомизированное исследование / В.Г. Савченко, Е.Н. Паровичникова, В.В. Троицкая, А.Н. Соколов, Г.А. Клясова и др. // Гематология и трансфузиология. – 2016. – Т. 61. № 1. – С. 64.

43. Сёмочкин, С.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика острых миелоидных лейкозов у взрослых по данным муниципальных отделений гематологии Москвы / С.В. Сёмочкин, Т.Н. Толстых, Н.В. Архипова, В.Л. Иванова, О.В. Ключева и др. // Терапевтический архив. – 2015. – Т. 87, № 7. – С. 26–32.

**VII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ГЕНЕТИКА ОПУХОЛЕЙ КРОВЕТВОРНОЙ
СИСТЕМЫ – ОТ ДИАГНОСТИКИ К ТЕРАПИИ»
19 – 20 МАЯ 2023
Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ**

Н. Ш. Абдуллаева, Х.Я. Каримов, З.А. Ражабова, К.Т. Бобоев

**ДИАГНОСТИКА БЛАСТНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ПРИ ОСТРЫХ ЛИМФОБЛАСТНЫХ
ЛЕЙКОЗАХ С ПОМОЩЬЮ ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЯ**

*Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии Минздрава Республики
Узбекистан, Ташкент*

Введение. В настоящее время в мире основным методом диагностики лейкозов является иммунофенотипирование методом проточной цитометрии. Преимущество этого метода заключается в том, что определение иммунофенотипического профиля патологических клеток дает четкое представление о том, к какому ряду (лимфоидному или миелоидному) принадлежат эти клетки. Это привело к тому, что анализ иммунофенотипирования методом проточной цитометрии стал золотым стандартом в диагностике лейкозов.

Цель. Ранняя диагностика пациентов с острым лейкозом, на основе изучения иммунофенотипического профиля бластных клеток.

Материалы и методы. Материалом исследования стали образцы костного мозга 43 пациентов с острым лейкозом, проходящих лечение в отделениях 1 и 2 гематологии Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра гематологии (РСНПМЦГ). Из 43 пациентов 16 были женщинами (37,2%) и 27 мужчинами (62,8%), медиана возраста составила 34 года (диапазон от 20 до 65 лет). Анализ иммунофенотипирования проводился на 2х лазерном, 6-ти цветном проточном цитометре BDFACSLyric ("Beckton Dickinson", США) с использованием моноклональных антител этой же фирмы.

Результаты. Из 43 пациентов у 30 (69,8%) диагностирован В-ОЛЛ (43,3% женщин, 56,7% мужчин), у 13 (30,2%) Т-ОЛЛ (14,3% женщин, 85,7% мужчин). Для иммунофенотипирования острого лимфобластного лейкоза использовалась панель, состоящая из моноклональных антител, меченных 6 разными

флуорохромами. Эта панель состоит из 4 пробирок, первая и вторая пробирки – АЛОТ №1 и АЛОТ №2 помогают ориентироваться, в каком направлении продолжить анализ. После определения того, к какому ряду принадлежат патологические клетки, анализ продолжается по панели, созданной для рядов. В нашем случае анализ продолжили по панели лимфоидного ряда: АЛОТ№1 – MPO/TdT/CD79a/sCD3/cyCD3/CD45, АЛОТ№2 – HLA-DR/CD7/CD34/CD117/CD19/CD45, В-ALL – CD10/CD38/CD34/CD20/CD19/CD45, Т-ALL – CD5/CD1a/CD8/CD4/CD2/CD45.

При иммунофенотипическом изучении популяций патологических клеток было замечено, что частота встречаемости В-ОЛЛ была выше, чем Т-ОЛЛ, и что в обоих случаях было больше пациентов мужского пола. У 8 пациентов с В-ОЛЛ была обнаружена aberrantная экспрессия маркеров миелоидного ряда CD33, CD13, CD15, CD36, CD11c, CD117. У 4 пациентов с Т-ОЛЛ была обнаружена aberrantная экспрессия маркеров миелоидного ряда CD13, CD15, CD11c, CD117. У 4 больных с Т-ОЛЛ позитивность миелоидных маркеров позволила диагностировать ОЛЛ из ранних предшественников Т-лимфоцитов (ETP-ALL). Экспрессия миелоидных маркеров на бластах ОЛЛ дала возможность точно верифицировать первичную патологическую популяцию клеток при диагностике минимальной остаточной болезни (МОБ).

Выводы. Иммунофенотипирование методом проточной цитометрии даёт возможность точно верифицировать подтипы острого лимфобластного лейкоза, что позволяет правильно выбирать тактику лечения, прогнозировать течение заболевания и в последующем проводить мониторинг МОБ.

Т.Р. Алимов, Ю.Ю. Ассесорова, Л.К. Мустафина, И.Т. Кодирова, Н.Х. Нуриддинова, К.Т. Бобоев

**ИНТЕГРИРОВАННЫЙ ПОДХОД В ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ
ГЕМОБЛАСТОЗА (СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ)**

*Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии Минздрава Республики
Узбекистан, Ташкент*

Введение. Дифференциальная диагностика онкогематологических заболеваний, как правило, является непростым процессом, что обусловлено их сложным патогенезом и неоднозначными клинико-лабораторными проявлениями. Совместное использование стандартного цитогенетического метода (СЦИ), дающего возможность проанализировать весь кариотип, и молекулярно-цитогенетических методов, в частности флуоресцентной in situ гибридизации (FISH), позволяет уточнить данные и получить более полные результаты в процессе решения диагностических задач в онкогематологии.

Цель. Целью данного исследования явилось проведение цитогенетического исследования с интегрированным подходом и ситуационным алгоритмом применения методов при диагностике больного с онкогематологическим заболеванием.

Материалы и методы. Объектом исследования стал костный мозг пациентки "R" 1962 г.р. с предварительным диагнозом «хронический миелолейкоз» (ХМЛ) (?). Цитогенетическое исследование было проведено методами стандартного кариотипирования метафазных пластинок (n=40) (анализа G-окрашенных хромосом) и флуоресцентной in situ гибридизации (FISH-анализа) с исследованием интерфазных ядер (n=100). Панель ДНК-проб включала: "BCR::ABL t(9;22)", "del(20q12-13)", "TCF3(E2A)::PBX1 t(1;19)", "MECOM(EVI1) (3q26.2) Breakapart", "IGH::MAFB t(14;20)" (производитель DIAGEN, Турция).

Результаты. Пациентка "R" была госпитализирована в клинику РСНПМЦГ МЗ РУз, где на основании клинической картины и данных общего анализа крови (гемоглобин – 56,0 г/л, эритроциты (RBC) – 2,14 x 10¹²/л, лейкоциты (WBC) – 142,0 x 10⁹/л,

бластные клетки – 8,0%, промиелоциты – 8,0%, миелоциты – 14,0%, метамиелоциты – 7,0%, палочкоядерные клетки – 20,0%, с/я – 30,0%, эозинофилы – 1,0%, моноциты – 1,0%, лимфоциты – 6,2% ($8,8 \times 10^9/\text{л}$); СОЭ – 40 мм/ч) был поставлен предварительный диагноз ХМЛ.

Стандартное цитогенетическое исследование выявило дериваты хромосомы 9 (der9) и хромосомы 22 (der22, Ph-хромосому) в 100% исследованных клеток. В 14 из 40 (35%) проанализированных метафаз были выявлены дополнительные изменения хромосом, в результате которых сформировался рН-позитивный клон с несбалансированным кариотипом, включая потерю хромосомы 20 и дериват хромосомы 19, который в регионе р-плеча (?) имел вставку крупного фрагмента. Поскольку другие хромосомы кариотипа не имели структурных изменений, связанных с потерей фрагмента, нами было выдвинуто предположение о том, что фрагмент на der(19) был транслоцирован с дополнительной хромосомой 3.

Для проверки данного предположения был проведен FISH-анализ с нестандартным использованием ДНК-проб к локусам на потенциально вовлеченных хромосомах. При исследовании методом FISH было подтверждено наличие транслокации t(9;22)(q34;q11.2), приводящей к образованию слитного гена BCR::ABL. В ходе анализа с использованием пробы "del(20q12-13)" в 14% интерфазных ядер была установлена моносомия 20 (nuc ish (20q12, 20q13.11-13.12 x1) [14/100]). Факт потери хромосомы 20 был подтвержден и обнаруженной

в 18% интерфазных ядер потерей сигнала по локусу 20q12 (проба "IGH::MAFB t(14;20)") (nuc ish (14q32 x2) (20q12 x1) [18/100]). Анализ пробы "TCF3 (E2A)::PBX1 t(1;19)" показал потерю сигнала по локусу 19p13.3 в 65% интерфазных ядер (nuc ish (1p32.3 x2) (19p13.3 x1) [65/100]). Оценка сигналов в интерфазных ядрах при использовании пробы "MECOM(EV11) (3q26.2) Breakapart" не выявила дополнительных фузионных свечений, что свидетельствует о вовлечении в перестройку фрагмента р-плеча и элиминации q-плеча дополнительной хромосомы 3.

Таким образом, проведенный анализ подтвердил наличие клона с дополнительными изменениями хромосом, выявленными при СЦИ, в частности, потерю одного из гомологов хромосомы 20, несбалансированную перестройку хромосомы 19 с потерей фрагмента р-плеча и образование der(19) с присоединением ацентрического фрагмента р-плеча дополнительной хромосомы 3. На основании данных СЦИ и уточняющих данных FISH-анализа был установлен кариотип больной: 46,XX,t(9;22)[40] / 45,XX,t(9;22),der(19)t(3;19)(p13;p13),-20 [14].

Выводы. При интегрированном подходе и ситуационном алгоритме применения технологий FISH исследование дополняет и уточняет результат цитогенетического исследования, расширяя спектр выявляемых генетических изменений. Данный подход позволяет увеличить возможности цитогенетических исследований не только для рутинных задач, но и для научных изысканий.

Ю.Ю. Ассессорова, Х.Я. Каримов, З.Д. Юнусова, А.К. Мардонов, Л.А. Мирзоева, К.Т. Бобоев

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии Минздрава Республики Узбекистан, Ташкент

Введение. Миелодиспластический синдром (МДС) представляет собой гетерогенное гематологическое новообразование с широким спектром клинических проявлений от изолированной анемии до панцитопении и склонности к трансформации в острый миелоидный лейкоз. Характерная для МДС морфологическая дисплазия костного мозга и неэффективное кроветворение возникают в результате ряда цитогенетических нарушений и соматических мутаций генов. В рекомендациях ELN для диагностики, прогнозирования и клинического ведения МДС предлагается проводить анализ только мутаций генов-кандидатов, но реальная ситуация требует более широкого охвата потенциальных генетических нарушений. Данная проблема решается по мере все более широкого внедрения в практику новых высокотехнологичных методов, однако определенную пользу может принести и классический метод цитогенетического исследования дифференциально окрашенных метафазных хромосом.

Цель. Описание клинического случая, при котором диагностика МДС с неблагоприятным течением была проведена с использованием технологий G-бэндинга метафазных хромосом и интерфазной FISH.

Материалы и методы. Объектом исследования стал костный мозг пациента А.Б., 2003 г.р., поступившего на стационарное обследование и лечение в РСНПМЦГ МЗ РУз. Цитогенетические исследования были выполнены методом стандартного кариотипирования (G-бэндинг) метафазных хромосом лейкозных клеток и интерфазной флуоресцентной in situ гибридизацией (FISH) с использованием локус-специфических зондов.

Результаты. Больной А.Б. поступил в РСНПМЦГ с анемическим и кожно-геморрагическим синдромами, а также интоксикацией, проявления которых отмечались им в течение последних 2-х лет. По причине неудачи культивирования, проводимого по стандартному протоколу, отсутствия метафазных пластинок после харвестинга костного мозга и общей малоклеточности

фиксата больному не удалось выполнить СЦИ и FISH-анализ. На основании клинической картины, данных общего анализа крови и миелограммы, больному был поставлен диагноз МДС. Несмотря на лечение, включавшее назначения согласно протоколу лечения МДС, состояние больного продолжало ухудшаться, в связи с чем было принято решение о повторном проведении цитогенетического исследования. В связи с цитопенией и низким количеством ядерных клеток ($WBC - 1,8 \times 10^9/\text{л}$), количество биоматериала (костного мозга), вносимого в питательную среду для культивирования in vitro, было увеличено до 1,5 мл, в результате чего удалось получить метафазные пластинки для выполнения хромосомного анализа. Кариотипирование показало, что в 100% [30/30] метафаз наблюдалась потеря одного из гомологов хромосомы 7. FISH-анализ с использованием панели ДНК-проб к МДС («del(5q31.2)», «del(7q31.2)», «del(13q14)», «del(20q12-13)», «MLL(11q23)-Breakapart», «Cen8», «EV11 (MECOM) (3q26.2)-Breakapart» – DIAGEN, Турция) подтвердил наличие в кариотипе больного -7, но не выявил других типичных для МДС цитогенетических изменений. Дополнительный анализ с использованием коммерческой панели ДНК-проб к маркерам ОМЛ («t(8;21)/AML1-ETO», «t(15;17)/PML-RAR α », «t(16;16)/inv(16)/CBFB-Breakapart», «t(9;22)/BCR-ABL», «t(6;9)/DEK-NUP214» – DIAGEN, Турция) также не выявил цитогенетических изменений, характерных для данного варианта миело-пролиферативного заболевания. Как известно, моносомия 7 встречается примерно в 30% случаев МДС. Кроме того, -7 может быть обнаружена при хроническом миеломоноцитарном лейкозе и остром миелоидном лейкозе, что говорит о неспецифичности данной аномалии для диспластического клона при МДС. Однако утрата 7 хромосомы ассоциируется с предрасположенностью к миелоидным заболеваниям, обусловленной потерей генов-супрессоров, включая ASNS (7q21.3q22.1), ACHE (7q), EPO (7q22), PLANH1 (7q22), MET (7q31.2-q31.3). Поскольку -7

является вторичным событием, способствующим лейкогенезу, можно предположить, что у больного в описываемом клиническом случае миелопролиферативное заболевание возникло по причине других изменений. Кроме того, моносомия по хромосоме 7, являясь спорным диагностическим маркером, имеет прогностическую значимость, поскольку клинически характеризуется восприимчивостью к инфекциям, быстрому обострению и резистентностью к лечению, что коррелировало с состоянием

пациента.

Выводы. В генетических исследованиях при МДС могут быть использованы любые доступные методы и технологии, позволяющие выявлять цитогенетические нарушения диагностической и прогностической значимости. Оптимизация методических подходов к пробоподготовке способствует повышению результативности анализов и получению ценной клинической информации.

Б.В. Бидерман, Н.А. Северина, Д.А. Королева, Н.Г. Габеева, А.В. Беляева, С.А. Татарникова, Ф.Э. Бабаева, Е.С. Нестерова, Я.К. Мангасарова, О.В. Марголин, М.О. Багова, А.У. Магомедова, С.К. Кравченко, Т.Н. Обухова, Е.Е. Звонков, А.Б. Судариков

МУТАЦИИ В ГЕНЕ TP53 У БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМИ ЛИМФОМАМИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Введение. Нарушения в гене TP53 являются крайне частыми событиями в клетках злокачественных новообразований. Они обнаруживаются практически при всех типах неоплазий и в большинстве случаев являются маркером неблагоприятного прогноза. Среди онкогематологических опухолей нарушения в этом гене давно изучаются при хроническом лимфоцитарном лейкозе, в то время как при лимфомах этой проблеме уделяется значительно меньше внимания.

Цель: изучить частоту, спектр и аллельную нагрузку мутаций в гене TP53 у больных В-клеточными лимфомами.

Материалы и методы. В исследование были включены образцы ДНК 233 пациентов с В-клеточными лимфомами, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ в 2019-2023 гг.: 82 пациента с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) – 44 женщины, 38 мужчин, возраст 28-87 лет, медиана возраста 56 лет; 59 пациентов с мантийно-клеточной лимфомой (МКЛ) – 21 женщина, 38 мужчин, возраст 42-73 года, медиана возраста 59 лет; 78 пациентов с фолликулярной лимфомой (ФЛ) – 45 женщин, 33 мужчины, возраст 30-72 года, медиана возраста 49 лет и 14 пациентов с лимфомой Беркитта (ЛБ) – 2 женщины, 12 мужчин, возраст 18-57 лет, медиана возраста 30,5 лет. Мутации в гене TP53 (4-10 экзоны) исследовали с помощью секвенирования нового поколения (NGS) согласно Pavlova et al. и валидировали методом секвенирования по Сэнгеру (при аллельной нагрузке мутаций (VAF) >15%). Клиническое значение обнаруженных вариантов определяли с помощью открытого онлайн-инструмента Seshat на основе базы данных UMD TP53.

Результаты. В группе пациентов с ДВККЛ мутации в гене TP53 были выявлены у 36 пациентов (44%), при этом в 5 случаях наблюдалось 2 и более вариантов. У 27 (33%) больных выявленные варианты (не менее 1) классифицировались как (вероятно) патогенные (ВПВ), у 9 (11%) как варианты неясного значения (ВНЗ). В 4 случаях с ВПВ и 5 случаях с ВНЗ VAF была <10%. Всего в этой группе было выявлено 38 миссенс-вариантов (в 4 случаях - в «горячих точках» R248, R249 и 2 в R282; по 2 раза выявлены замены в позициях G266 и E286), 2 мутации зоны сплайсинга, 1 нонсенс-мутация, 1 инсерция и 1 делеция.

В группе МКЛ мутации были обнаружены у 24 пациентов (40%), в 3-х случаях – 2 варианта. У 20 больных (34%) были выявлены ВПВ и у 4 (6%) – ВНЗ. VAF <10% выявлена в 1 случае ВПВ и 3 – ВНЗ. В данной группе было обнаружено 24 миссенс-мутации (6 из них в «горячих точках» - 4 R248 и 2 R273, а также 2 в положении V173), 2 сплайсинг-мутации и 1 нонсенс-вариант.

В группе с ФЛ мутации TP53 были выявлены у 17 пациентов (21%), в 7 случаях – 2 и более варианта. У 16 (20%) были выявлены ВПВ и у 1 (1%) – ВНЗ. VAF <10% выявлена в 1 случае ВПВ и 3 – ВНЗ. В данной группе было найдено 22 миссенс-мутации (7 из них в «горячих точках» - R175, 2 R248, R249, 2 R273 и R282), 2 сплайсинг-мутации, 3 нонсенс-мутации (2 – в одной позиции W53X) и 1 делеция.

Выводы. Полученные результаты показывают, что частота мутаций в гене TP53 у пациентов с В-клеточными лимфомами в нашей выборке сохраняется с ее увеличением, и является более высокой, чем опубликованная для других выборок. Отчасти этот факт можно объяснить предварительной селекцией пациентов – в НМИЦ Гематологии чаще поступают пациенты с развернутыми стадиями заболевания. В подавляющем большинстве случаев наблюдаются ВПВ с высокой мутационной нагрузкой (VAF>10%). Интересен тот факт, что для МКЛ и ФЛ наблюдается значительно более высокая частота встречаемости аминокислотных замен в «горячих точках», чем при других онкогематологических заболеваниях. Эти варианты считаются наиболее неблагоприятными, т.к. отличаются приобретением новых онкогенных функций, в том числе механизмов устойчивости к химиотерапии.

Анализ мутаций в гене TP53 при лимфомах крайне важен. Согласно предварительным данным клинического исследования «ЛКМ-2016», проводимом в НМИЦ Гематологии, аллоТГСК и CAR-T-терапия являются единственными вариантами лечения для больных МКЛ с мутациями гена TP53. Планируются дальнейшие исследования влияния вида мутаций, их аллельной нагрузки и их сочетания с нарушениями 17-й хромосомы на течение лимфом.

И.Г. Будаева¹, А.А. Шатилова², Д.В. Моторин², Р.Ш. Бадаев², Н.Т. Сиордия¹, В.В. Иванов¹, К.В. Богданов², Ю.В. Миролюбова², Т.В. Никулина¹, Алексеева Ю.А.¹, Е.Г. Ломаиа², Л.Л. Гиршова²

ГИЛТЕРИТИНИБ-СОДЕРЖАЩАЯ БРИДЖ-ТЕРАПИЯ — ОПТИМАЛЬНОЕ СОЧЕТАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С FLT3-ПОЗИТИВНЫМ РЕЦИДИВНЫМ И РЕФРАКТЕРНЫМ ОМЛ

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург

² Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины», Санкт-Петербург

Введение. Мутация в гене FLT3 является одной из самых часто встречающихся мутаций у пациентов с острым миелоидным

лейкозом (ОМЛ). Прогноз данной группы пациентов остается неблагоприятным. Исследование III фазы «ADMIRAL» проде-

монстрировало преимущество в эффективности, переносимости и выживаемости при применении ингибитора FLT3 гилтеритиниба в монорежиме по сравнению с «терапией спасения» в группе пациентов с рецидивным и рефрактерным (P/P) ОМЛ. Кроме того, в настоящее время активно изучаются комбинации гилтеритиниба с гипометилирующими агентами, ингибитором bcl-2.

Цель. Сравнить эффективность, переносимость и выживаемость «терапии спасения» и таргетной терапии у пациентов с FLT3-позитивным P/P ОМЛ.

Материалы и методы. В ретроспективный анализ включено 27 пациентов (14 женщин и 13 мужчин). Медиана возраста составила 35 лет (18-66) и 45 лет (24-83) в группе интенсивной и таргетной терапии, соответственно. Двенадцать пациентов (44,4%) имели рецидив ОМЛ (из них 66,6% ранний рецидив), 15 пациентов (55,6%) – рефрактерное течение. 13 пациентов (48,1%) получили интенсивную терапию (ИТ) (FLAG+/-Ida), 14 пациентов (51,9%) – таргетную терапию. В группе пациентов, получивших таргетную терапию, 7 пациентам (50%) проведена терапия «Азациитидин+венетоклакс+гилтеритиниб», 2 (14,3%) – «Азациитидин+венетоклакс», 5 (35,7%) – монотерапия гилтеритинибом.

Результаты. Ранняя индукционная летальность наблюдалась только в группе ИТ (3 случая). Эффективность терапии в группе ИТ оценивалась среди 10 пациентов. Частота общего ответа (ПР, ПРн, ПР МОБ (-), MFLS) статистически не отличалась в обеих группах (71,4% (10/14) в группе таргетной терапии против 60% (6/10) в группе ИТ, $p>0,05$). Медиана времени до достижения ответа была сопоставима в обеих группах (0,9 мес. против 0,9 мес.). Частота развития серьезных нежелательных явлений была значимо выше в группе пациентов, получивших ИТ, чем в группе таргетной терапии (61,5% (8/13) против 18,1% (3/14), соответственно, $p=0,032$). Процент пациентов, подвергшихся аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) был выше в группе таргетной терапии, чем в группе ИТ (83,3% пациентов (8/13) против 61% (10/12 – два пациента не являлись кандидатами для проведения аллоТГСК)). Общая и безрецидивная выживаемость статистически не отличалась в обеих группах (24,1 мес. против 19,3 мес; 4,9 мес. против 3,3 мес, соответственно, $p>0,05$).

Выводы. Таргетная терапия FLT3-позитивного P/P ОМЛ сопоставима по эффективности и скорости ответа с ИТ, но более безопасна и позволяет большему числу пациентов перейти на этап алло-ТГСК.

А.В. Виноградов¹, Д.В. Ласточкина²

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭСКАЛИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ С УЧЕТОМ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

¹Государственное автономное учреждение здравоохранения Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Введение. Терапия острого миелоидного лейкоза основывается на данных молекулярно-генетического статуса пациента, от которого зависит течение заболевания. Отдельное место занимают пациенты с патогенетически значимыми абберациями, определяющими неблагоприятный прогноз, что обуславливает необходимость интенсификации лечения и применения трансплантации костного мозга.

Цель. Сравнительный анализ клинических случаев пациентов с острым миелоидным лейкозом с неблагоприятным молекулярно-генетическим профилем.

Материалы и методы. Проведено исследование образцов костного мозга и периферической крови пациентов К. 35 лет и К. 59 лет, проходивших лечение с применением химиотерапии, таргетной терапии и аллогенной трансплантации костного мозга. Диагностика генетического статуса проводилась методами цитогенетического исследования, полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на специфические генетические аномалии и методом высокопроизводительного секвенирования на приборе MiSeqDX (Illumina, США) с использованием набора QIAseq Targeted DNA Human Myeloid Neoplasms Panel (Qiagen, США).

Результаты. Цитогенетическое исследование больной К. 59 лет выявило: 48, XX, +11, +mar [3]/46, XX [8], у больной К. 35 лет - 48, XX, +4, +21 [2]/47, XX, +4 [3]/46, XX [2]. То есть оба наблюдения характеризовались абберантным кариотипом лейкозных клеток с формированием анеуплоидных субклонов. Методом высокопроизводительного секвенирования у пациентки К. 59 лет были выявлены патогенетически значимые мутации в C2395T в гене DNMT3A, G419A IDH2 и C284G SRSF2. В свою очередь, у пациентки К. 35 лет определялись мутации C2644T в гене DNMT3A и A2447T в гене c-KIT.

У пациентки К. 59 лет заболевание дебютировало после инфекции COVID-19, за время наблюдения ей проведен курс индукции ремиссии, аллогенная трансплантация костного моз-

га, трансфузии донорских лейкоцитов, терапия руксолитинибом, азациитидином и венетоклаксом, гаплоидентичная трансплантация костного мозга. Несмотря на проводимую терапию, продолжительность первой и второй ремиссии не превышала 12 месяцев, пациентка скончалась на +18 сутки после второй трансплантации костного мозга от гаплоидентичного донора. Терапия больной К. 35 лет включала 2 курса индукции, 3 курса консолидации и 2 трансплантации костного мозга от родственного гаплоидентичного донора. В результате проводимого лечения была достигнута стойкая продолжительная ремиссия (более 36 месяцев).

Выводы. Диагностика генетических маркеров опухоли во многом определяет тактику терапии пациентов с ОМЛ. Мутации гена DNMT3A определяют более неблагоприятный прогноз. Однако сочетание с абберациями IDH2 приводит к еще большему снижению общей выживаемости по сравнению с изолированным повреждением DNMT3A. Помимо этого, мутации в генах, регулирующих сплайсинг РНК (SRSF2), тоже связаны с низкой выживаемостью.

В обоих описанных случаях у больных прослеживается абберантный кариотип и патогенетически значимые генные мутации. В первом клиническом наблюдении влияние таких факторов как возраст, коморбидность, наличие 3 генных мутаций (DNMT3A, IDH2 и SRSF2) способствовали резистентно-рецидивирующему течению заболевания, завершившегося летальным исходом. Во втором наблюдении у пациентки более молодого возраста, несмотря на генные мутации (DNMT3A и c-KIT), была достигнута стойкая продолжительная ремиссия в результате применения двойной гаплоидентичной трансплантации костного мозга.

ДИАГНОСТИКА FLT3-ПОЗИТИВНЫХ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ У БОЛЬНЫХ МОЛОДОГО И ЗРЕЛОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ ЭПИДЕМИЧЕСКИХ ОГРАНИЧЕНИЙ ПО НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

¹Государственное автономное учреждение здравоохранения Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница №1», Екатеринбург

²ФГБУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург

³Государственное автономное учреждение здравоохранения Свердловской области «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

Введение. Пандемия новой коронавирусной инфекции (НКВИ) обусловила необходимость использования новых организационных технологий диагностики и лечения больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) как одной из групп риска. Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.03.2020 №198н «О временном порядке организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения НКВИ COVID-19» была исключена госпитализация пациентов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, в общесоматические отделения. Во исполнение этого, были изданы приказы Министерства здравоохранения Свердловской области от 06.04.2020 №551-п «О временной маршрутизации пациентов в эпидемический сезон НКВИ (COVID-19) по профилям (хирургия, травматология, онкология, гемодиализ)», от 29.12.2021 №3052-п «О маршрутизации пациентов онкогематологического профиля, больных НКВИ, для проведения лечения в условиях инфекционного стационара», от 02.01.2022 №2-п «Об организации проведения химиотерапевтического лечения больных онкогематологическими заболеваниями», регламентирующие маршрутизацию больных онкогематологического профиля в условиях эпидемического неблагополучия по НКВИ.

Цель. Проанализировать результаты диагностики FLT3-позитивных ОМЛ у больных молодого и зрелого возраста в условиях эпидемических ограничений, обусловленных пандемией НКВИ, в Свердловской области.

Материалы и методы. Проанализировано 47 случаев ОМЛ у взрослых больных в возрасте моложе 60 лет, проходивших лечение в Свердловском областном гематологическом центре в 2020-2022 гг. Средний возраст пациентов составил 50,7 лет. Всем больным на этапе диагностики выполнено иммунофенотипирование, цитогенетический анализ, ПЦР-детекция транскриптов химерных генов PML::RARA, RUNX1::RUNX1T1, CBFB::MYH11, MLLT3::KMT2A, DEK::NUP214, BCR::ABL1, а также мутаций FLT3 D835 и FLT3-ITD методом фрагментного анализа. Генодиагностика и иммунофенотипирование ОМЛ проводилось

в ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница» в связи с перепрофилированием лаборатории ГАУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница №1» для ПЦР-диагностики НКВИ. Диагностика ОМЛ, включая молекулярно-генетическое типирование, осуществлялась за счет средств Территориальной программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи в Свердловской области.

Результаты. Частота выявления мутаций FLT3-ITD в исследуемой группе составила 21,3%, FLT3 D835 – 6,4%, в одной исследуемой пробе при ОМЛ M2 с диплоидией одновременно выявлялись FLT3 ITD и FLT3 D835 (2,1%). Средний возраст больных ОМЛ с мутациями в гене FLT3 составил 45,6 лет, что было несколько ниже, чем в среднем по группе. Мутации FLT3 D835 в двух случаях выявлены при ОМЛ M3 с экспрессией PML::RARA, в одном – при ОМЛ M1 с кариотипом 46, XY, del(9)(q13). Дупликация FLT3 ITD определялись в 3 случаях при ОМЛ M1 (из них 2 – диплоидия, 1 – 46, XX, der(7)t(?;7)(q25;q31)), 3 – при ОМЛ M2 (по одному случаю диплоидия, трисомия хромосомы 8 и транслокация t(8;21)(q22;q22) с экспрессией гена RUNX1::RUNX1T1), 2 – при ОМЛ M3 с экспрессией транскрипта PML::RARA bcr3, по одному случаю – ОМЛ M4 и M5 с диплоидией. Уровень аллельной нагрузки FLT3 ITD составил в среднем 0,50 (диапазон от 0,09 до 1,0). Инфекция COVID-19 у пациентов с FLT3-позитивным ОМЛ выявлена в 12 случаях, из них в 8 случаях – непосредственно на этапе диагностики либо индукционной химиотерапии ОМЛ, в 4 случаях – через 2 месяца и более после начала лечения ОМЛ. Схемы, включающие таргетный препарат мидостаурин, были использованы в 7 случаях, при этом все указанные пациенты перенесли НКВИ на различных этапах лечения, в основном – в фазу индукции-консолидации ремиссии ОМЛ (5 наблюдений).

Выводы. Таким образом, несмотря на эпидемическое неблагополучие по НКВИ, на территории Свердловской области в 2020-2022 гг. были реализованы возможности для диагностики, генотипирования и таргетной терапии больных FLT3-позитивным ОМЛ зрелого и молодого возраста, частота выявления которых составляла 29,8%.

Е.Н. Воропаева^{1,2}, Т.И. Поспелова², М.И. Чуркина², О.В. Березина², А.А. Гуражева¹, В.Н. Максимов¹

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ P53-РЕСПОНЗИВНЫХ ОНКОСУПРЕССОРНЫХ МИКРО-РНК И МУТАЦИЙ В ГЕНЕ TP53 ПРИ С ДИФFUЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск

Введение. До четверти пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) имеют мутации в гене TP53, ассоциированные с резистентностью к стандартной и противорецидивной терапии. В настоящее время полностью не раскрыты механизмы нарушения функционирования при ДВККЛ различных участников сигнальной цепи белка p53.

Противоопухолевые эффекты данного белка опосредуются за счет miR-34a, miR-34b, miR-34c, miR-129 и miR-203, уровень которых при лимфомах снижен. Нарушение экспрессии данных микроРНК может быть связано как с мутационным статусом TP53, так и другими механизмами, наименее изученным из которых является aberrантное метилирование. Несмотря на то,

что общие знания о роли микро-РНК в развитии злокачественных новообразований системы крови накапливаются быстрыми темпами, данные по частоте и спектру метилирования генов микро-РНК при ДВККЛ немногочисленны.

Цель. Изучить частоту, сочетанность и клиническое значение метилирования генов микро-РНК MIR-203, MIR-129-2, MIR-34A и MIR-34B/C и мутационного статуса гена TP53 в опухолевой ткани больных ДВККЛ.

Материалы и методы. Проанализировано 136 образцов ДНК из опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ и 11 – больных с реактивным лимфаденитом. Выявление мутаций в гене TP53 проводилось методом прямого секвенирования по Сэнгеру, в соответствии с IARC protocol. Определение статуса метилирования генов осуществляли методами метил-специфичной ПЦР и метил-чувствительного анализа кривых плавления высокомолекулярного разрешения. Сочетанность выявления метилирования изученных генов p53-респонзивных микро-РНК и мутаций TP53 анализировалась путем вычисления Log2 Odds Ratio и одностороннего точного критерия Фишера (p-value) с поправкой на множественность сравнений с помощью процедуры Бенджамини – Хохберга (q-value). Ассоциацию метилирования анализируемых генов микро-РНК с клиническими параметрами оценивали с применением методов χ^2 Пирсона или F-критерия, 5-летнюю общую выживаемость больных – методом Каплан-Майера с log-rank критерием.

Результаты. Частота метилирования MIR-129-2, MIR-203, MIR-34A и MIR-34B/C и мутаций TP53 в опухолевой ткани

ДВККЛ составила 65%, 66%, 23%, 55% и 21%, соответственно. Метилирование генов микро-РНК носило опухоль-специфичный характер. В подавляющем большинстве образцов лимфомы метилирование MIR-129-2, MIR-203, MIR-34A и MIR-34B/C было сочетанным: в 15/136 (11,1%) случаев имело место метилирование всех 4-х, а в 60/136 (44,1%) – 3-х и в 33/136 (24,3%) – 2-х из проанализированных генов. Тогда как метилирование анализируемых генов микро-РНК и мутации в гене TP53 в опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ являлись независимыми событиями (p-Value и q-Value >0,05). Метилирование MIR-34A было ассоциировано с неблагоприятным прогнозом, согласно Международному прогностическому индексу (p = 0,002), метилирование MIR-34B/C (p = 0,026) и MIR-203 (p = 0,011) – с высокой пролиферативной активностью опухоли (экспрессией маркера Ki-67). Была отмечена тенденция к снижению частоты достижения ремиссии (p = 0,060) после первой линии терапии и показателей 5-летней общей выживаемости (p = 0,162) в подгруппе больных с метилированием MIR-34A.

Выводы. Таким образом, aberrантное метилирование изучаемых генов микро-РНК при ДВККЛ может являться независимой от мутаций в гене TP53 причиной снижения экспрессии miR-34a, miR-34b, miR-34c, miR-129 и miR-203, служить маркером для дифференциальной диагностики с реактивными изменениями в лимфоузле, а также иметь потенциальное прогностическое значение и требует дальнейшего изучения в качестве мишени для таргетного лечения лимфомы.

А.Д. Гарифуллин^{1,2}, С.В. Волошин^{1,3}, И.С. Мартынкевич¹, М.П. Бакай¹, Е.В. Клеина¹, С.Ю. Линников¹

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА, МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ВЫЖИВАЕМОСТИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

³Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург

Введение. Критерии стратификации больных на группы при множественной миеломе (ММ) подвергаются периодическим обновлениям в связи с появлением новой информации о прогностическом влиянии генетических аномалий (ГА) и минимальной остаточной болезни (МОБ). Разделение пациентов в группы риска на основе генетических маркеров используется многими центрами для выбора терапии и оптимизации лечебной программы, а статус МОБ, определяемый после индукционной терапии, рассматривается в качестве критерия длительности ремиссии заболевания. В свою очередь, проведение аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) у больных ММ является доступным методом, позволяющим улучшить результаты терапии.

Цель. Определить прогностическое значение генетических аномалий, МОБ и аутоТГСК у пациентов с впервые выявленной ММ.

Материалы и методы. Проведено комплексное обследование 87 пациентов ММ. Все пациенты получали бортезомиб-содержащие программы первичной противомиеломной терапии (VD, CVD, VMP, PAD).

Результаты. На основании модифицированной mSMART 3.0, в группу высокого риска (BP) mSMART 3.0mod (TP53/del17p, t(4;14), t(4;16), t(14;20), +1q, R-ISS III) включены пациенты, имеющие «комплексный кариотип» или Double Hit ММ и характеризующихся низкими показателями общей (ОВ) и беспрогрессивной выживаемости (БПВ). Медиана ОВ в группе стандартного риска (CP) mSMART 3.0mod (n = 53) не была достигнута, в группе BP mSMART 3.0mod (n = 34) – 50 месяцев: 5-летняя ОВ составила 61% и 38%, соответственно (p = 0,0073). Медиана БПВ в группе

CP mSMART 3.0 (n = 53) составила 43 мес., в группе BP mSMART 3.0mod (n = 34) – 29 мес. (p = 0,047).

Наилучшие результаты БПВ и ОВ были достигнуты в обеих группах пациентов при выполненной аутоТГСК. Медиана ОВ в группе CP mSMART 3.0mod с аутоТГСК (n = 37) не была достигнута, в группе BP mSMART 3.0mod с аутоТГСК – 48 месяцев (n = 20); в группе CP a mSMART 3.0mod без аутоТГСК – 40 месяцев (n=16); в группе BP mSMART 3.0mod без аутоТГСК – 22 месяца (n = 14); 5 – летняя ОВ составила 81 %, 60 %, 33 % и 28 % соответственно (p = 0,0015). Медиана БПВ не была достигнута, 46, 22 и 19 месяцев соответственно (p = 0,017).

Минимальная остаточная болезнь, определяемая в костном мозге методом проточной цитометрии, была изучена у 73 пациентов. МОБ-негативный статус («МОБ-») достигнут у 35 больных (48 %). Медиана ОВ в группе «МОБ-» не была достигнута, в группе «МОБ+» составил 114 мес. (p = 0,0017). Медиана БПВ составила 68 мес. и 34 мес., соответственно (p = 0,047).

Оценка остаточной опухолевой массы методом ПЭТ-КТ с 18 ФДГ была проведена у 38 больных. ПЭТ-КТ-негативный полный ответ («ПЭТ-КТ-») достигнут у 27 больных (71 %). Медиана БПВ в группе «ПЭТ-КТ-» составила 50 мес., в группе «ПЭТ-КТ+» – 28 мес. (p = 0,013). Анализ группы «ПЭТ-КТ-» продемонстрировал достоверное снижение медианы БПВ при наличии МОБ+ результата в костном мозге. При анализе всех подгрупп было выявлено, что наилучшие показатели БПВ имеют пациенты с достижением полной элиминации опухолевого клона по данным обеих исследований – проточной цитометрии и ПЭТ-КТ, группа «МОБ-/ПЭТ-КТ-» по сравнению с пациентами остальных групп («МОБ-/ПЭТ-КТ+», «МОБ+/ПЭТ-КТ-», «МОБ+/ПЭТ-КТ+»). Медиана

на БПВ составила 110 мес. и 28 мес., соответственно ($p = 0,006$).

Выводы. Показатели общей и беспрогрессивной выживаемости были достоверно выше у пациентов в группе стандартного риска, чем в группе высокого риска по данным tSMART 3.0mod. При этом аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток позволяет улучшить результаты ле-

чения, особенно у пациентов в группе высокого молекулярно-генетического риска. Статус МОБ и ПЭТ-КТ после проведенной терапии являются сильными прогностическими параметрами, что, возможно, позволит использовать их в качестве стратифицирующих факторов МОБ-адаптированной терапии.

М.В. Гаськова, И.И. Калинина, А.Н. Казакова, О.И. Солдаткина, К.А. Воронин, М.Э. Дубровина, С.А. Кашпор, А.М. Попов, Е.А. Зеркаленкова, М.А. Масчан, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова, Ю.В.Ольшанская

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ WT1 ПРИ ОМЛ У ДЕТЕЙ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Введение. Острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) – клинически и генетически гетерогенное заболевание, в основе патогенеза которого лежит широкий спектр генетических изменений. Современная стратификация на группы риска и выбор терапии ОМЛ основаны на значимых молекулярно-генетических маркерах.

WT1 – ген опухолевой супрессии, мутации в нем впервые были описаны у пациентов с WAGR синдромом (опухоль Вильямса, аниридии, урогенитальные аномалии, задержка психомоторного развития). Ранее было показано, что гиперэкспрессия мРНК WT1 в периферической крови у больных с ОМЛ ассоциирована с неблагоприятным прогнозом и были предприняты попытки использовать уровень экспрессии WT1 для мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ) по оценке экспрессии WT1. Однако метод так и не вошел в стандарты рутинной диагностики. Мутации в гене WT1 встречаются в 8-12% случаев ОМЛ и у взрослых пациентов, и, как было недавно показано, ассоциированы с неблагоприятным прогнозом. Данных о прогностическом значении мутаций WT1 у детей недостаточно.

Цель. Определить частоту и спектр мутаций в гене WT1, их прогностическую значимость у пациентов детского возраста с ОМЛ, получавших терапию в рамках протокола «ОМЛ-MRD 2018».

Материалы и методы. В рамках проспективного многоцентрового исследования ОМЛ у детей в РФ «ОМЛ-MRD 2018» с 2018 по 2022 год в ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Д.Рогачева были проведены молекулярно-генетические исследования 281 пациентам с ОМЛ. Медиана возраста составила 9 лет (от 2 месяцев до 17,9 лет), мальчиков и девочек было поровну (1:1). Всем пациентам было выполнено кариотипирование (G-banding) и FISH для определения стратифицирующих транслокаций. Секвенирование по Сэнгеру и фрагментный анализ были выполнены для обнаружения мутаций в гене FLT3-ITD, SEVPA, NPM1. Для оценки мутационного статуса WT1 был использован метод высокопроизводительного таргетного секвенирования (ВПС) с набором Human Myeloid Neoplasms Panel № DHS-003Z (Qiagen, Германия).

Результаты. Мутации в гене WT1 были обнаружены в 27

случаях (9,6%). Преимущественно мутации встречались в ДНК-связывающем домене (экзоны 7-10): в 7 экзоне (67%, $n = 18$), 9 экзоне (18,5%, $n = 5$), 8 экзоне (11%, $n = 3$). В одном случае мутация была обнаружена в 3 экзоне N-концевого домена, отвечающего за транскрипционную регуляцию. Преимущественно мутации были представлены вариантами с потерей функции гена (loss-of-function) со сдвигом рамки считывания ($n = 20$) и нонсенс вариантом в одном случае, миссенс замены были выявлены в 6 случаях.

Среди пациентов, имеющих WT1 мутации, нормальный кариотип был выявлен в 26% случаев ($n = 7$), t(8;21) и перестройка гена NUP98 в 18,5% ($n = 5$ каждый), перестройка гена KMT2A и inv16 в 7% ($n = 2$ каждый), трисомия 8 и моносомия 7 выявлены по 1 случаю. В 4 случаях значимые хромосомные aberrации выявлены не были.

Мутации WT1 чаще всего сочетались с мутациями в генах тирозинкиназ 70% (FLT3-ITD ($n = 7$), FLT3-TKD ($n = 1$), NRAS ($n = 8$) и KIT ($n = 3$)). Также выявлено сочетание с мутациями в генах SEVPA ($n = 4$) и NPM1 ($n = 2$)).

Бессобытийная 2-летняя выживаемость (БСВ) у WT1-позитивных пациентов была достоверно ниже, чем у WT1-негативных: 20% ($n = 27$, 95% ДИ 8,7- 48%) и 47% ($n = 254$, 95% ДИ 35 – 51%) соответственно ($p = 0,004$). При этом в группе промежуточного риска мутации в WT1 не оказывают достоверного влияния на БСВ, в то время как в группе высокого риска присутствие мутаций в WT1 достоверно ухудшает БСВ (7% vs 41%, $p < 0,001$). В группе стандартного риска было 2 пациента со временем наблюдения 10 месяцев, оба в ремиссии. За события в данном случае принимались: рецидив – у 6 пациентов, первичная рефрактерность – у 8, смерть в 5 случаях.

Выводы. Мутации в гене WT1 у детей с ОМЛ были обнаружены в 9,6% ($n=27$), сочетались с другими событиями, как со структурными хромосомными aberrациями, так и мутациями в других генах.

Пациенты детского возраста с мутациями в гене WT1 имели худшую БСВ: 20% против 47%, особенно это характерно для группы высокого риска.

Т.Ю. Грачева, М.В. Латыпова, С.С. Рюмин, М.Е. Власова, О.В. Пирогова, Т.Л. Гиндина

МНОЖЕСТВЕННАЯ МИЕЛОМА ВЫСОКОГО РИСКА ПО ДАННЫМ FISH ДИАГНОСТИКИ НА СЕЛЕКТИВНЫХ CD138+ КЛЕТКАХ

Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачева», Федерального Государственного Бюджетного Образовательного Учреждения Высшего Образования «Первый Санкт-Петербургский Медицинский Университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург

Введение. Множественная миелома (ММ) является генетически сложным и гетерогенным новообразованием, в котором генетические aberrации являются основным фактором, играющим важную роль в стратификации риска. Генетические aberr-

рации высокого риска при ММ включают первичные транслокации t(4;14), t(14;16), t(14;20), а также вторичные aberrации, связанные с прогрессией заболевания, такие как амплификация 1q, делеции 1p и 17p/TP53.

Цель. Изучить генетические аномалии высокого риска при ММ с использованием FISH на выделенных из костного мозга CD138+ клетках.

Материалы и методы. В исследование включены 317 пациентов с ММ, которые были обследованы в НИИ ДОГиТ им Р.М. Горбачевой ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова с 2020 по 2023 год. Среди пациентов было 138 (44%) мужчин и 179 (56%) женщин от 33 до 84 лет (медиана 61 год). FISH исследование проводили с помощью ДНК-зондов (Metasystems, Германия) к транслокациям t(11;14)/MYEOV::IGH, t(4;14)/FGFR3::IGH, t(14;16)/IGH::MAF, t(14;20)/IGH::MAFB, локусам генов IGH, TP53, DLEU1/LAMP1, CDKN2C/CKS1B и хромосомным сегментам 5p15, 9q22, 15q22.

Результаты. Генетические аномалии были обнаружены у 254 (80%) пациентов. Реаранжировка гена IGH была определена у 124/254 (49%) больных, из них первичные транслокации высокого риска были выявлены у 65/124 (52%) пациентов: у 37 – транслокация t(4;14)/FGFR3::IGH, у 5 – транслокация t(14;16)/IGH::MAF, у 4 – транслокация t(14;20)/IGH::MAFB. У 19 больных транслокационный партнер IGH не был установлен. Транслокация t(11;14)/MYEOV::IGH была определена у 59 (48%) пациентов.

Гипердиплоидный вариант ММ был установлен у 165 (65%) пациентов, причем у 50 (20%) больных гипердиплоидия сочеталась с реаранжировкой гена IGH. Аномалии 1-й хромосомы, делеции/моносомии 13-й и 17-й хромосом были изучены, преимущественно, в группе пациентов с гипердиплоидией, транслокацией t(11;14) и гетерозиготной делецией гена IGH. Самыми частыми вторичными аномалиями высокого риска были пере-

стройки 1-й хромосомы. Следует отметить, что амплификация 1q21/CKS1B с числом копий 1q21 от 3 до 8 была обнаружена у 78/208 (37%) пациентов, в то время как делеция 1p32/CDKN2C – у 10 (5%) больных, а комбинация 1p- и 1q+ – у 4 (2%). Моносомия 13-й хромосомы была выявлена у 64/196 (32%) пациентов, в то время как делеция 13q встречалась реже и была зарегистрирована у 7 (4%) больных. У 3 (2%) пациентов было обнаружена комбинация делеции 13q и моносомии 13-й хромосомы в разных опухолевых клонах. Делеция гена TP53 была выявлена у 25/212 (12%) пациентов, у 4 (2%) – моносомия 17-ой хромосомы, а у 7 (3%) было отмечено одновременное присутствие и делеции TP53, и моносомии 17-й хромосомы в разных клонах клеток. Более детальный анализ показал, что вторичные аномалии высокого риска имели место у 121/165 (73%) пациента с гипердиплоидией, при этом double-hit повреждения были отмечены у 14/165 (9%) пациентов этой группы. В свою очередь, при ММ с транслокацией t(11;14) вторичные аномалии высокого риска были обнаружены у 38/59 (64%) пациентов, а double-hit повреждения – у 7 (12%). В то же время в группе пациентов с гетерозиготной делецией IGH вторичные аберрации высокого риска были выявлены у 16 из 23 (69%) пациентов, а double-hit повреждения – у 1 (4%).

Выводы. Первичные транслокации высокого риска встречаются у половины больных ММ с перестройками IGH. В свою очередь, вторичные аномалии высокого риска свойственны большинству больных ММ с гипердиплоидией и транслокацией t(11;14), из них самыми распространенными аберрациями являются амплификация 1q и моносомия/делеция 13-й хромосомы.

Ю.О. Давыдова, И.В. Гальцева, Н.М. Капранов, К.А. Никифорова, О.А. Алешина, Ю.А. Чабаяева, Г.А. Исинова, Е.С. Котова, С.М. Куликов, Е.Н. Паровичникова

ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОФЕНОТИПА ОСТАТОЧНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ ЛИМФОБЛАСТНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Введение. Минимальная остаточная болезнь (МОБ) является значимым фактором, влияющим на прогноз, и связана с выживаемостью больных острыми лейкозами. Одним из методов, применяемых для детекции МОБ, является многоцветная проточная цитометрия (МПЦ). Этот метод обладает высокой чувствительностью (10⁻⁴ – 10⁻⁵) и позволяет оценить не только количество остаточных опухолевых клеток (ООК), но и их иммунофенотип. Однако экспрессия антигенов ООК ранее не сопоставлялась с выживаемостью больных.

Цель. Оценить связь МОБ, определенной методом МПЦ, и иммунофенотипа ООК с безрецидивной выживаемостью (БРВ) больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом (В-ОЛЛ), проходящих терапию в соответствии с протоколом «ОЛЛ-2016» (NCT03462095).

Материалы и методы. С 2016 по 2022 годы в исследование «ОЛЛ-2016» было включено 267 больных острыми лимфобластными лейкозами. Персистенцию МОБ определяли в аспиратах костного мозга (КМ) в конце индукции (день 70) методом 6- или 10-цветной МПЦ. Иммунофенотип ООК – экспрессию антигенов CD19, CD45, CD10, CD34, CD38, CD20 и CD58 при В-ОЛЛ – оценивали полуколичественным способом, соотнося с иммунофенотипом нормальных клеток КМ. Выделяли 6 вариантов экспрессии антигенов: 1) негативная «-»; 2) частично-позитивная «-/»; 3) слабая (dim); 4) частично-негативная «+/-»; 5) позитивная «+»; 6) высокая «high». Статистический анализ выполнен с помощью программного обеспечения IBM SPSS v.23 и R 3.6.3. Анализ БРВ проводился методом Каплан-Мейера, кластерный анализ – методом «ward.D».

Результаты. На 70 день протокола «ОЛЛ-2016» МОБ оце-

нили у 94 больных В-ОЛЛ, у 37 (39,4%) МОБ была обнаружена. Четырехлетняя БРВ была ниже в группе МОБ-негативных больных (37% против 78%, p < 0,0001).

ООК в МОБ-позитивных случаях сформировали три кластера в зависимости от их иммунофенотипа. Первый (n = 13) и второй (n = 8) кластеры характеризовались низкой экспрессией CD10 («-» и «-/»), а третий кластер (n = 16) включал CD10-положительные случаи («+/-», «+» и «high»). Все ООК во втором кластере не экспрессировали CD38, в то время как в первом кластере ООК в 7-ми случаях были CD38+, в 4-х – CD38dim и в 2-х – CD38-. Высокая экспрессия CD58 была более характерна для ООК в первом кластере, чем во втором (5 против 0 случаев). Экспрессия других антигенов в кластерах не отличалась. Медианы БРВ в 1-м, 2-м и 3-м кластерах составили 8,7 мес., 37,1 мес. и 34,7 мес. соответственно (p = 0,04). Т.к. кластеры отличались по экспрессии CD10, CD38 и CD58, мы определили связь экспрессии каждого из этих антигенов и БРВ. У больных с CD10- ООК 4-летняя БРВ была ниже, чем у больных с хотя бы частичной экспрессией CD10 (19% против 51%, p = 0,004). 4-летняя БРВ у больных с CD38-положительными ООК была ниже, чем с CD38-негативным клоном (0% против 51%, p < 0,0001). Высокая экспрессия CD58 была выявлена у больных с худшей 4-летней БРВ (21% против 40%, p = 0,02). Наиболее неблагоприятным иммунофенотипом ООК был CD10-CD38+CD58high, и БРВ у таких больных составила 0%.

Выводы. Персистенция МОБ в конце индукции протокола «ОЛЛ-2016» ассоциирована с худшей БРВ больных. Иммунофенотип ООК, в частности экспрессия CD10, CD38 и CD58, может являться дополнительным фактором прогноза у больных В-ОЛЛ.

РОЛЬ ПРИЦЕНТРОМЕРНЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ ДНК В ФОРМИРОВАНИИ ОПУХОЛЕВОЙ НИШИ В СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЯХ И ПРИ ГЕМАТООНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург

Введение. Аномальное микроокружение опухоли (МО) модифицирует ответ опухоли на терапию. В литературе есть информация об aberrантной экспрессии прицентромерных tandemных повторов сателлитной некодирующей ДНК в опухолевых клетках при многих онкологических заболеваниях. Однако транскрипция tandemно повторяющихся элементов в стромальных клетках МО недооценена, что ограничивает оптимальное использование сателлитных транскриптов в качестве биомаркеров или противораковых мишеней.

Цель. Оценить наличие прицентромерных повторов сателлитной некодирующей ДНК (сатДНК) в солидных опухолях на материале аденокарциномы легкого мыши и человека и в гематоонкологической нише при множественной миеломе (ММ).

Материалы и методы. Общее количество исследованных образцов: аденокарцинома легкого мыши – 15 образцов, аденокарцинома легкого человека – 3 образца, ММ (от пациентов после индукционной терапии первой линии с бортезомибом) – 14 образцов. Культуральные методы исследований, специфические для исследованных образцов.

Профиль транскрипции сатДНК был получен *in silico* методом анализа транскриптомных данных на уровне одной клетки. Результаты анализа *in silico* были проверены *in vitro* с помощью qPCR и *in situ* с помощью ДНК-РНК FISH. Также использованы методы сокультивирования различных клеток в присутствии и отсутствии противоопухолевых препаратов.

Результаты. Мы обнаружили, что транскрипция сатДНК в аденокарциноме легкого мыши и человека наблюдалась в ассоциированных с раком фибробластах (CAF), а в гематоонкологической нише при ММ в мезенхимных стромальных клетках костного мозга (МСК КМ). *In vivo* фибробласты легкого и МСК КМ при ММ экспрессируют прицентромерные сателлитные повторы HS2/HS3. В срезах трепанобиоптатов КМ транскрипты HS2/HS3 были обнаружены в α MSA+ МСК, но не в опухолевых клетках. *In vitro* транскрипция сатДНК индуцировалась в фибробластах лег-

ких в ответ на TGF β , IL1 α , жесткость матрикса, прямой контакт с опухолевыми клетками и лечение химиотерапевтическими препаратами. В МСК КМ при ММ наблюдались схожие процессы.

В обоих случаях модифицированные под влиянием контакта с опухолевыми клетками CAF и МСК ММ приобретали способность повышать устойчивость опухолевых клеток к противоопухолевым препаратам. Блокирование экспрессии повторяющихся прицентромерных повторов ДНК приводило к исчезновению этого эффекта. Прицентромерные транскрипты человека были обнаружены в ядре, цитоплазме, внеклеточно и совместно локализованы с внеклеточными везикулами в CAF и МСК КМ *in situ* в биоптатах тканей человека и *in vitro*. Транскрипты передавались в клетки-реципиенты и попадали в их ядра. Нокадаун сателлитных транскриптов в фибробластах легких человека ослаблял клеточное старение и блокировал формирование воспалительного фенотипа CAF, что приводило к ингибированию их проонкогенных функций. По результатам qPCR самый высокий уровень транскрипции наблюдался в МСК у пациентов, не ответивших на индукционную бортезомиб-содержащую терапию первой линии. Транскрипция HS2/HS3 не была обнаружена в МСК здоровых доноров КМ, если только они не были совместно культивированы с опухолевыми клетками ММ и не приобрели опухоль-ассоциированный фенотип.

Выводы. Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что сателлитные длинные некодирующие (lnc) РНК индуцируются в стромальных клетках опухолевой ниши не только в солидных опухолях, но и при гематоонкологических заболеваниях (на примере ММ), регулируют экспрессию воспалительных генов и могут секретироваться клетками в межклеточное пространство и поглощаться соседними клетками, что потенциально может представлять собой новый элемент межклеточной коммуникации в МО. Полученные данные подтвердили, что транскрипция HS2/HS3 участвует в механизмах лекарственной устойчивости при гематологических злокачественных новообразованиях.

Е.В. Ефремова¹, С.И. Капустин², Н.Н. Немсцверидзе¹, А.А. Пирхало¹, Е.С. Милеева¹, Н.Н. Силина¹,
Н.Е. Корсакова¹, Л.П. Папаян¹, С.В. Волошин¹, С.В. Сидоркевич¹

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ФАКТОРА XII В ФОРМИРОВАНИИ ФИБРОЗА У БОЛЬНЫХ РН-НЕГАТИВНЫМИ МПН

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Городская клиническая больница №31", Санкт-Петербург

Введение. Миелопролиферативные новообразования (МПН) характеризуются повышенной пролиферацией клеток и цитокинов, экстрамедуллярным гемопоэзом и замещением костного мозга фиброзной тканью по мере прогрессирования заболевания. В их число входят истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) и первичный миелофиброз (ПМФ). Фактор XII (FXII) – зимоген, действующий не только на систему гемостаза, но и на активирование факторов роста тканей, иммуноопосредованное воспаление и формирование

фиброза в различных органах. FXII стимулирует Akt2, инициируя нейтрофильную адгезию, миграцию и хемотаксис, что приводит к появлению NETs (нейтрофильных внеклеточных ловушек). Образование NETs является одной из особенностей МПН и связано с высокой частотой тромбоза. Уровень и активность FXII ассоциированы с полиморфизмом гена 46 С/Т FXII.

Цель. Оценить частоту и клиническую значимость полиморфизма гена 46 С/Т FXII у пациентов с МПН.

Материалы и методы. Мы исследовали наличие полимор-

физма гена 46 C/T FXII у 88 пациентов (34 мужчины и 54 женщины) с МПН. Из них 33 ИП, 25 ЭТ, 20 ПМФ, 10 постИП (ЭТ) МФ. Средний возраст составлял 57 лет (29-80 лет). Все испытуемые были жителями Северо-западного региона России и дали добровольное согласие на включение в исследование. Полиморфизм гена FXII 46 C/T оценивался методом ПЦР-ПДРФ. Различия в распределении генотипа между группами были оценены точным тестом Фишера. Отношения шансов (OR), их 95% доверительные интервалы (CI) и r-значения были рассчитаны с помощью программного обеспечения GraphPad Prism.

Результаты. Гомозиготы аллеля 46 T FXII обнаружены у двух пациентов (6%) с ИП, одного пациента (4%) с ЭТ, 4 пациентов (20%) с ПМФ и 3 (30%) со вторичным миелофиброзом (МФ). Частота мутаций в общей группе пациентов с фиброзом (7/30 – 23%) была выше по сравнению с пациентами группы с ЭТ и ИП (3/58 – 5%) (OR = 5.6, 95% CI: 1.3-23.5, p = 0,028). Расхождение между мутациями у пациентов с ПМФ и постИП (ЭТ) МФ незна-

чительно (p = 0,657). Девять из десяти пациентов со вторичным МФ получали лечение гидроксимочевинной, включая период до трансформации. Один пациент с постЭТ МФ получал терапию анагредидом. Медиана продолжительности лечения составила 34 месяца (диапазон 2-64). Частота тромбозов в группе с наличием мутации не отличалась от группы без мутации – 34,6% и 30% (p = 0,73). Активность фактора XII в плазме оценивалась только у пациентов с повышенным АПТВ, и полные данные для анализа отсутствуют. Данные результаты являются промежуточными. Оценка клинического значения FXII до миелофиброза будет проводиться в дальнейших исследованиях и при увеличении количества наблюдений.

Выводы. Мутации FXII могут способствовать увеличению его активности и развитию фиброза костного мозга у пациентов с ЭТ и ИП. Оценка влияния FXII на фиброз костного мозга может помочь в изучении патогенеза заболевания и, как следствие, являться точкой приложения для терапевтического воздействия.

Е.А. Зеркаленкова, И.А. Демина, О.И. Солдаткина, А.Н. Казакова, А.А. Семченкова, М.А. Гончарова, Г.А. Новичкова, М.А. Масчан, А.И. Карачунский, Ю.В. Ольшанская, А.М. Попов

КОРРЕЛЯЦИЯ ПОВЕРХНОСТНОЙ ЭКСПРЕССИИ ТИМУСНОГО СТРОМАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРА ЛИМФОПОЭТИНА С НАЛИЧИЕМ РЕАРАНЖИРОВОК ГЕНА CRLF2 У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ ИЗ В-КЛЕТОЧНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Введение. Острый лимфобластный лейкоз из В-клеточных предшественников (ВП-ОЛЛ) с гиперэкспрессией гена CRLF2 является одним из недавно описанных подтипов ОЛЛ с неблагоприятным прогностическим значением. В настоящее время известно, что не только высокая экспрессия CRLF2, но и наличие перестроек с участием этого гена связано с плохим прогнозом. С другой стороны, тотальный первоначальный генетический скрининг данных генетических маркеров бессмысленен, поскольку их частота составляет менее 10% ВП-ОЛЛ. Поверхностная экспрессия рецептора стромального лимфопоэтина тимуса (TSLPR) на опухолевых клетках может использоваться в качестве прогностического маркера для выявления пациентов, нуждающихся в таком глубоком молекулярном профилировании.

Цель. Анализ поверхностной экспрессии белка TSLPR и сравнение иммунофенотипа опухолевых клеток у детей с ВП-ОЛЛ, несущим перестройки гена CRLF2, с таковым у детей без таких aberrаций.

Материалы и методы. В работу были включены образцы костного мозга (КМ) от 46 пациентов с первичным ВП-ОЛЛ, у которых были обнаружены перестройки гена CRLF2 с помощью FISH (когорты CRLF2(+)). В контрольную когорту были включены 140 образцов без перестроек CRLF2 по данным FISH (когорты CRLF2(-)). Половой состав двух когорт был следующим: 21 маль-

чик/25 девочек в группе CRLF2(+) и 82 мальчика/58 девочек в группе CRLF2(-). Средний возраст пациентов с CRLF2(+) составлял 4 года (от 1 до 17 лет); в когорте CRLF2(-) средний возраст составлял 5 лет (от 7 месяцев до 17 лет).

Результаты. Большинство пациентов из группы CRLF2(+) имели положительную экспрессию ($\geq 20\%$ положительных клеток) белка TSLPR (33 из 46, 71,7%). Среди оставшихся пациентов в этой группе двое вообще не имели поверхностной экспрессии TSLPR, семеро имели менее 10% TSLPR-позитивных клеток и четверо имели от 10% до 20% TSLPR-позитивных клеток. Напротив, у большинства пациентов с CRLF2(-) отсутствовали TSLPR-позитивные клетки (119 из 140, 85,0%), тогда как в 15 случаях (10,7%) процент TSLPR-позитивных клеток был ниже 10%, а в шести случаях (4,3%) он составлял от 10% до 20%. ROC-анализ выявил порог всего в 1,6% TSLPR-позитивных клеток для эффективного предсказания наличия перестройки CRLF2. Более того, этот порог сохранял свою прогностическую ценность, когда исследовались только образцы с низким уровнем TSLPR-позитивности.

Выводы. Если при диагностике ВП-ОЛЛ выявляется поверхностная экспрессия белка TSLPR на любом уровне, следует уделить пристальное внимание поиску хромосомных aberrаций с участием гена CRLF2.

А.Б. Итов, Н.С. Мочалова, М.В. Гаськова, М.Д. Казанов, М.А. Масчан, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская

АНАЛИЗ ПОЛОЖЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ТАНДЕМНЫХ ДУПЛИКАЦИЙ В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА FLT3 У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Введение. Внутренние tandemные дупликации в гене FLT3 (FLT3-ITD) у детей с острым миелоидным лейкозом встречается

в 15% случаев, чаще при нормальном кариотипе. Ген FLT3, кодирующий FMS-зависимую тирозинкиназу III типа, состоит

из пяти иммуноглобулиноподобных внеклеточных доменов, трансмембранного домена, юкстамембранного (JM) домена, доменов тирозинкиназы (TKD1 и TKD2), между которыми домен вставки киназы (KID) и С-концевого домена. Юкстамембранный домен, выступающий в качестве аутоингибирующей области в гене FLT3, включает в себя область связывания (JM-B: binding motif), область переключения (JM-S: switch motif), zipper-область (JM-Z: zipper motif). FLT3-ITD имеют различия в положении, длине и количестве дупликаций. Полагают, что длинные ITD сильнее нарушают структуру белка FLT3, приводя к более выраженному нарушению аутоингибирующей регуляции, чем короткие ITD.

Цель. Проанализировать положение внутренних tandemных дупликаций по отношению к функциональным областям гена FLT3 у детей с острым лейкозом и выявить общий дублируемый участок, который несет потенциальную ответственность за трансформирующий потенциал белка FLT3.

Материалы и методы. В исследование были включены 65 пациентов с острым лейкозом, которым в лаборатории цитогенетики и молекулярной генетики НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России определили наличие внутренней tandemной дупликации в гене FLT3 (FLT3-ITD) методом фрагментного анализа. Медиана возраста пациентов составила 9,56 (0,26-17,84 лет), соотношение по полу (м:ж) – 1:1 (39:34). Для определения положений дублирования в последовательности гена FLT3, образцы были исследованы методом высокопроизводительного секвенирования (ВПС). Для создания библиотеки была использована кастомизированная панель генов QIASeg HMNP (Qiagen, Germany). Средняя глубина прочтения составила 1000x. Для обнаружения крупных вставок был использован специальный биоинформатический алгоритм (анализ Pindel).

Результаты исследования. С помощью ВПС удалось определить последовательность 75 tandemных дупликаций. Длина ITD варьировала в диапазоне от 6 до 120 п.о. У двух пациентов было выявлено по три дупликации от 21 до 114 п.о., у семи ис-

следуемых по 2 дупликации от 21 до 120 п.о., у пятидесяти пяти по одной ITD от 6 до 105 п.о. Наиболее распространенной дублируемой областью оказался богатый тирозином участок юкстамембранного домена Y591-Y599. Дублирование минимум одной аминокислоты в данной области выявлено у 94,8% (n = 72) пациентов. Весь участок (YVDFREYEEY) дублировался в 38% случаях (n = 29). Самой часто дублируемой аминокислотой был Y597 (81,5%). Было обнаружено 9 ITD (11,8%), которые охватывали один остаток тирозина, 28 (36,8%) охватывали два остатка тирозина, 15 (19,7%) и 22 (29%) – три и четыре остатка тирозина соответственно. У двух пациентов в дупликации не было задействовано ни одного остатка тирозина (2,6%). Комбинированная дупликация остатков тирозина Y589 и Y591, которые являются потенциальными активаторами сигнального пути STAT-5, была обнаружена в 49% случаев (n = 37).

Дупликации располагались по всей длине экзона 14, в интронной области 14-15 экзона, в 5 случаях в 15 экзоне. У 30 (54,5%) пациентов с одним ITD (n = 55) затрагивались исключительно структурные области JMD- JM-B (Y572-M578), JM-S (V579-V592), JM-Z (D593-L603), в 11 (20%) JM-домен и шарнирный участок HR (E604-N609), в 14 случаях (25,5%) JMD, HR и beta1-sheet TKD1(L610-E611). У пациентов (n = 9) с тремя и двумя внутренними tandemными дупликациями различной длины затрагивались все области JMD, HR и beta1-sheet TKD1.

Выводы. Все внутренние tandemные дупликации затрагивают JM-домен: в 55,2% случаях дублировались исключительно аминокислотные остатки JM-домена, в 43,4% случаев аминокислотные остатки JM, HR, beta1-sheet TKD1-доменов. Самой часто дублируемой областью оказался богатый тирозином участок юкстамембранного домена Y591-Y599 (в 94,8% случаев). Дупликация аминокислотных остатков zipper области JMD встречается в 95% случаев. Используемый нами биоинформатический алгоритм Pindel позволяет выявлять крупные вставки при анализе данных NGS.

М.М. Канунников, А.И. Шакирова, Л.С. Зубаровская, Н.Н. Мамаев

МЕСТО ВААЛС-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ПАТОГЕНЕЗЕ И ЛЕЧЕНИИ CORE-BINDING FACTOR ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачёвой, ФГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Введение. Core-binding factor острые миелоидные лейкозы (CBF-ОМЛ) характеризуются наличием в кариотипе t(8;21)(q22;q22) или inv(16)(p13q22)/t(16;16). Они относятся к группе благоприятного цитогенетического риска и успешно лечатся цитарабином (ЦБ). При этом 5-летняя общая выживаемость (ОВ) составляет 50-60%, а рецидивы имеют место у 30-40% пациентов. В исследованиях последних лет было показано, что при этих лейкозах средние дозы ЦБ не уступают общепринятым высоким, а токсический эффект на гемопоэз значительно ниже. Аналогичное переосмысление тактики ведения коснулось также видов ТГСК и сроков их выполнения относительно достигнутых ремиссий. В то же время прогностическая значимость многих, ранее установленных цитогенетических, молекулярных и общеклинических факторов оказалась под сомнением. В этих условиях основной акцент при ведении больных CBF-ОМЛ стал делаться на оценку минимальной остаточной болезни (МОБ), определяемой серийно по уровню экспрессии сливных генов RUNX1/RUNX1T1 или CBFβ/МУН11. При этом нельзя упускать из внимания известный факт их внутриутробного формирования, из-за чего уровни их экспрессии могут быть ложно увеличены даже у больных со стойко достигнутыми ремиссиями. Отсюда, чтобы не перелечивать больных CBF-ОМЛ, оценка их терапии должна быть усилена, что может быть обеспечено при одновременном изучении уровня экспрессии ассоциированного с

активными классами лейкозных гемопоэтических стволовых клеток (лГСК) гена ВААЛС, что в данной работе станет основой для обсуждения.

Цель. Исследовать уровни экспрессии гена ВААЛС у взрослых и детей с различными цитогенетическими вариантами CBF-ОМЛ, в том числе при параллельном измерении уровней химерных генов RUNX1/RUNX1T1 или CBFβ/МУН11.

Материалы и методы. В исследование вошло 47 больных с CBF-ОМЛ inv(16)/t(16;16) (n=19) и t(8;21)(q22;q22) (n=28) с медианой возраста 31 год (2-81). У 41 из них диагноз был поставлен на основании цитогенетических и молекулярных данных, а у 6 – только с помощью интерфазной FISH. Содержание лейкоцитов в момент постановки диагноза варьировало от 2,1 до 235 x 10⁹/л (медиана 33 x 10⁹/л), а содержание бластных элементов в костном мозге было в пределах 20,8% – 96% (медиана 57%). Уровни относительной экспрессии генов ВААЛС, WT1 и упомянутых выше сливных генов определялись в костном мозге больных методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (РВ-кПЦР), а полученные величины соотносили с уровнями транскриптов гена ABL1. В качестве порога для разграничения высоких и низких значений гена ВААЛС была использована величина в 31%, а для гена WT1 - 250 x 104 копий гена ABL1. В то же время пороговая величина для сливных генов была 0,001%. Изменение уровней экспрессии

гена BAALC на фоне проведенной терапии с цитарабином было оценено у 20 больных. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием языка программирования «R».

Результаты. Дополнительные хромосомные нарушения имели место у 6 больных с inv(16) и у 18 с t(8;21). При этом они не отражались на уровне экспрессии гена BAALC. Обращает внимание, что средние уровни экспрессии гена BAALC у детей были ниже, чем у взрослых (141% и 267%, $p = 0,049$), что не было свойственно гену WT1 (2844 и 4789 копий, $p = 0,73$). Результаты сопоставления уровней экспрессии изученных сливных генов и

гена BAALC показали более высокую чувствительность к терапии последнего, что даёт все основания для активного использования его для оценки эффективности терапии, в том числе направленной на устранение рецидивов

Заключение. Параллельное определение уровней экспрессии генов BAALC, WT1, RUNX1/RUNX1T1 или CBF β /MYH11 при лечении больных с CBF-ОМЛ теоретически оправдано. Такой подход создаёт реальную основу для дальнейшей разработки персонализированной терапии этих необычных вариантов ОМЛ.

Х.Я. Каримов, Б.Р. Алланазарова, Ш.Э. Садикова, Ш.О. Бердиева

РОЛЬ СТАНДАРТНОГО ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ВЫЯВЛЕНИИ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии Минздрава Республики Узбекистан, Ташкент

Введение. Несмотря на ограничения стандартного цитогенетического анализа, он является важнейшим исследованием в диагностике, прогнозе и лечении онкогематологических заболеваний для определения маркерных и дополнительных хромосомных аномалий (ДХА). Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) представляет собой клональное миелопролиферативное заболевание, характеризующееся уникальной цитогенетической аномалией – транслокацией между хромосомами 9 и 22 (t(9;22)(q34;q11)), которая приводит к образованию так называемой филадельфийской хромосомы более чем у 90% больных. Уже на этапе диагностики примерно у ~5% больных в Ph-положительных клонах могут появиться ДХА. Среди ДХА, участвующих в эволюции кариотипа, отсутствие Y-хромосомы может наблюдаться у 5% больных. Прогностическое значение ДХА у пациентов с ХМЛ до сих пор обсуждается, поскольку спектр генетических аномалий и вовлеченных генов достаточно широк.

Цель. Целью работы является презентация клинического случая Ph-положительного ХМЛ, при котором у больного была выявлена ДХА – потеря хромосомы Y.

Материалы и методы. Объектом исследования был костный мозг (2,0 мл) больного в возрасте 61 года, первично обратившегося в гематологический центр, которому на основании характерных клинических признаков был установлен диагноз ХМЛ. Состояние больного оценивалось средней степенью тяжести. Исследование кариотипа было выполнено СЦИ методом GTG-бэндинга. Всего было проанализировано 46 метафазных пластинок. Поиск метафаз осуществляли при увеличении $\times 200$, анализ метафазных пластинок – при увеличении $\times 1000$ (микроскоп AXIO Scope.A1, «Zeiss»). Идентификацию хромосом проводили в соответствии с международной системой цитогенетической номенклатуры ISCN 2013.

Результаты. При первичном клиническом осмотре больного и по данным общего анализа крови (уровень гемоглобина составил 90 г/л, абсолютное количество эритроцитов – $2,93 \times 10^9$ /л, тромбоцитов – 486×10^9 /л, лейкоцитов – $292,0 \times 10^9$ /л,

относительное количество бластов – 4%, миелоцитов – 8%, промиелоцитов – 2%, метамиелоцитов – 9%, палочкоядерных клеток – 12%, сегментоядерных – 37%, эозинофилов – 6%, базофилов – 8%, лимфоцитов – 14%; показатель СОЭ составил 16 мм/ч) был установлен предварительный диагноз ХМЛ и оценена степень тяжести заболевания. При цитогенетическом исследовании установлено, что 100% бластных клеток пациента содержали дериваты хромосом 9 и 22, указывающие на наличие транслокации – t(9;22), что позволило верифицировать диагноз как хронической миелолейкоз. Кроме того, при СЦИ у пациента обнаружен Ph-положительный клеточный клон (35% (16/46)), в котором наблюдалась потеря хромосомы Y. По литературным данным потеря Y-хромосомы в клетках костного мозга (КМ) является нормальным возрастным событием, а также может являться признаком некоторых заболеваний. Однако при ХМЛ данная аномалия с повышенной частотой отмечается при клональной эволюции и прогрессии заболевания, что может говорить о её вовлеченности в патогенез ХМЛ. Кроме того, при ХМЛ потеря Y хромосомы в лейкозных клетках встречается, в более молодом возрасте, чем в клетках костного мозга у здоровых людей. Значение потери половой хромосомы у условно-здоровых лиц и/или пациентов-мужчин, не связанных с онкологическими заболеваниями, неясно, также остается открытым вопрос о прогностической значимости потери Y хромосомы в клетках костного мозга при ХМЛ. Однако, поскольку ХМЛ является клональным заболеванием, субпопуляции патологических лейкоцитов с потерей Y хромосомы могут представлять собой субклоны, связанные с развитием основного онкогематологического заболевания и его клональной эволюцией.

Выводы. Таким образом, обсуждаемый случай представляет одну из дополнительных хромосомных аномалий, встречаемых при ХМЛ, которая может указывать на потенциальную прогрессию заболевания. Кроме того, данное исследование показывает значимость цитогенетического исследования на основе GTG-бэндинга для выявления клональной эволюции.

Х.Я. Каримов, Ш.Х. Султонова, Д.Б. Шамсутдинова, Д.А. Мохаммад, К.Т. Бобоев

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЛЕЙКОЗЕ В УЗБЕКИСТАНЕ

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии МзРУз, Ташкент

Введение. Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) представляет собой гематологическое заболевание, характеризующееся неопластической трансформацией гемопоэтических

стволовых клеток, несущих филадельфийскую (Ph) хромосому. Ph-хромосома на молекулярном уровне приводит к образованию слитого онкогена BCR::ABL1, кодирующего многодоменные

онкопротеины BCR::ABL1 с конститутивной тирозинкиназной активностью, который вызывает aberrантную активацию нескольких внутриклеточных путей, приводящих к злокачественной трансформации. В современной клинической практике количественная полимеразная цепная реакция (Q-PCR) является «золотым стандартом» для диагностического мониторинга транскриптов BCR::ABL1. ПЦР-тестирование может быть либо качественным, дающим информацию о наличии транскрипта BCR::ABL1, либо количественным, оценивающим экспрессию химерного гена BCR::ABL1. Качественная ПЦР используется для диагностики ХМЛ; количественная ПЦР - для мониторинга остаточного заболевания.

Цель. Изучение мониторинга минимальной остаточной болезни хронического миелолейкоза при помощи молекулярно-генетических исследований с использованием методов ПЦР в режиме реального времени.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили образцы РНК, выделенные из периферической крови 150 больных (80 мужчин и 70 женщин, в возрасте от 25 до 75 лет, медиана возраста – 50 лет) с клинически и цитогенетически установленным диагнозом ХМЛ, обследовавшихся в Республиканском специализированном научно-практическом медицинском центре гематологии Республики Узбекистан.

Результаты. Большой молекулярный ответ был достигнут у 20 из 25 (80%) пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 18 месяцев, у 12 из 40 (30%) пациентов с субоптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 18 месяцев, у 40 из 50 (80%) пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 12 месяцев, у 20 из 35 (57%) пациентов с субоптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 12 месяцев, у 18 из 23 (78%) пациентов с опти-

мальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 6 месяцев, у 10 из 23 (43%) пациентов с субоптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 6 месяцев, у 12 из 43 (28%) пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии менее 3 месяцев, и у 8 из 38 (21%) пациентов с субоптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии менее 3 месяцев. Частичный молекулярный ответ был достигнут у 5 из 25 (20%) пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 18 месяцев, и у 28 из 40 (70%) пациентов с субоптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 18 месяцев, у 10 из 50 (20%) пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 12 месяцев, у 15 из 35 (43%) пациентов с субоптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 12 месяцев, у 5 из 23 (22%) пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 6 месяцев, у 13 из 23 (43%) пациентов с субоптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии 6 месяцев, у 31 из 43 (72%) пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии менее 3 месяцев, и у 30 из 38 (79%) пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом и длительностью терапии менее 3 месяцев.

Выводы. Таким образом, молекулярный ответ, детектируемый измерением относительной экспрессии гена BCR::ABL1 методом количественной ПЦР, предоставляет важную прогностическую информацию для ведения пациентов с ХМЛ, получающих терапию ИТК. Для определения эффективности применяемой терапии целесообразен анализ МОБ по шкале IS на 3-й, 6-й и 9-й месяцы лечения. Результаты наших исследований свидетельствуют об эффективности терапии ХМЛ иматинибом, что соответствует результатам международных исследований.

М. А. Каханова^{1,2}, М. Н. Бутюгина^{1,2}, А. А. Клодзинский¹, Л. Г. Тургунова^{1,2}

РЕПЕРТУАР IGHV РЕАРАНЖИРОВОК У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ В КАЗАХСТАНЕ

¹ТОО «Центр Гематологии», Караганда

²НАО «Медицинский Университет Караганды», Караганда

Введение. Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) возникает в результате клональной экспансии зрелых В-лимфоцитов и характеризуется крайней клинической гетерогенностью. Одним из наиболее надежных прогностических маркеров ХЛЛ является мутационный статус генов тяжелых вариабельных участков иммуноглобулинов (IGHV), который определяет 2 подмножества: мутированный ХЛЛ (М-ХЛЛ) и немутированный ХЛЛ (Н-ХЛЛ). М-ХЛЛ встречается чаще, в 50-55 % случаев и протекает индолентно. Н-ХЛЛ встречается реже, в 35-40 % случаев, протекает более агрессивно и сопряжен с высоким риском.

Различия в ХЛЛ между азиатским и европейским населением широко известны. Учитывая многонациональность нашего государства, представляло интерес изучение репертуара реаранжировок IGHV в нашей Республике.

Цель исследования. Изучить репертуар реаранжировок генов IGHV у пациентов с ХЛЛ в Казахстане и его взаимосвязь с другими характеристиками заболевания.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 88 пациентов с подтвержденным диагнозом ХЛЛ методом проточной цитометрии. Все пациенты дали информированное согласие. Из них 44 (50 %) мужчин и 44 (50 %) женщин в возрасте от 37 до 85 лет (средний возраст 66 лет). ПЦР анализ мутационного статуса генов вариабельных участков иммуноглобулинов был проведен в условиях лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» под руководством доктора биологических наук Мартынкевич И. С. методом секвенирования по Сэнгеру.

Результаты сравнивались с данными, полученными в других географических регионах.

Результаты. В общей сложности М-ХЛЛ был подтвержден у 28 пациентов (31,82 %), Н-ХЛЛ был подтвержден у 56 пациентов (63,64 %), и у 4 пациентов определена двойная реаранжировка генов IGHV – мутирован/немутирован (4,54 %). Возможно, преобладание Н-ХЛЛ связано со смещением выборки: чаще исследование проводилось у тех пациентов, которые были госпитализированы в стационар и имели показания к началу терапии. Наиболее часто используемыми семействами были IGHV 3 (46/45,5%) > IGHV 1 (29/28,7%) > IGHV 4 (22/21,8%), которые схожи с наблюдаемыми аргентинскими семействами. В ходе анализа было выявлено, что наиболее часто встречаемая реаранжировка – IGHV 1-69, которая среди немутированных составила 23,5 %, среди общей популяции – 15,8 %; на втором месте – IGHV 4-34, которая среди немутированных составила 4,4 %, среди мутированных – 15,2 %, среди общей популяции – 7,9 %; третье место разделяют – IGHV 1-2 и IGHV 4-59, которые среди общей популяции составили 6,9 %. Частота выявления IGHV 1-69 по литературным данным в европейской популяции варьирует от 12 до 14 % и чаще встречается у мужчин. В настоящем исследовании соотношение мужчин и женщин с IGHV 1-69 составило 9:7, 14 пациентов (87,5%) относились к европеоидам, и только 2 (12,5%) – к монголоидам. IGHV 1-69 является наиболее часто выявляемым геном у западных пациентов с ХЛЛ, о котором сообщают многие исследователи, как правило, с немутированным фенотипом. Частота этого гена варьируется в разных популяциях в зависимости от их географического происхождения.

Наиболее частое использование этого гена было зарегистрировано у украинских и испанских пациентов с ХЛЛ (~31,5 %), из которых 98 % имели немутированную последовательность. В совокупности представленность IGHV 1-69 значительно ниже у азиатских пациентов с ХЛЛ. Из 88 пациентов с определённым статусом IGHV летальность составила 18,2 % (16 пациентов), из них Н-ХЛЛ имели 13 пациентов (81,25 %), М-ХЛЛ – 2 пациента (12,5 %), и 1 пациент имел двойной (мутирован/немутирован) статус (6,25 %). Из 16 умерших пациентов – у 4 была выявлена реаранжировка IGHV 1-69 (25 %). С мутированным статусом живут дольше, летальных случаев в нашей популяции, в сравнении

с немутированным статусом, меньше в 6,5 раз.

Выводы. В исследованной популяции соотношение мутированного и немутированного статуса IGHV составило 33 к 67 % (1:2). В группе с немутированным статусом и общей популяции превалирует реаранжировка IGHV 1-69. У пациентов с мутацией IGHV 1-69 прогноз заболевания неблагоприятный и сопряжён с низкой продолжительностью жизни и высокой летальностью. В сравнении с литературными данными преобладание реаранжировки IGHV 1-69 в большей степени ассоциировано с расовой принадлежностью – чаще европеоиды, монголоиды – значительно реже (14:2).

Д.А. Килина, Е.Г. Никитина, Д.В. Моторин, Ю.В. Миролюбова, Е.Г. Ломаиа, Е.С. Кудрявцева, Е.Ю. Васильева, О.В. Калинина, Т.В. Вавилова

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург

Введение. Несмотря на достигнутые успехи применения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) при лечении онкогематологических заболеваний, эффективный мониторинг возникновения возможных рецидивов после проведения алло-ТГСК остается актуальной проблемой. В связи с этим анализ динамики гемопоэтического химеризма (ГХ) и различных биомаркеров минимальной остаточной болезни (МОБ) играет важнейшую роль для оценки состояния пациента и планирования соответствующих лечебных мероприятий.

Цель исследования. Изучить закономерности связи между изменениями показателей ГХ как способа оценки степени приживления трансплантата, и уровня экспрессии генов, как способа оценки МОБ у пациентов после алло-ТГСК.

Материалы и методы. В исследование ретроспективно были включены образцы костного мозга (КМ), полученные от пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) и с хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ), а также образцы периферической крови (ПК), полученные от пациентов с ХМЛ, проходивших обследование и лечение в НМИЦ им. В.А. Алмазова с 2019 по 2023 годы.

Оценка степени приживления трансплантата у пациентов после алло-ТГСК проводилась при ОМЛ на основании результатов ГХ и уровня экспрессии гена WT1 в клетках КМ, при ХМЛ на основании ГХ в образцах КМ и уровня экспрессии химерного гена BCR::ABL1 в образцах ПК. Исследование ГХ и МОБ проводилось в динамике в стандартные точки наблюдения пациентов после алло-ТГСК. Критерием включения было одномоментное взятие образцов КМ и ПК для проведения всех молекулярно-биологических исследований. Гемопоэтический химеризм оце-

нивали методом фрагментного анализа коротких тандемных повторов с использованием набора реагентов «COrDIS Plus» (Россия). Уровень экспрессии генов WT1 и BCR::ABL1 определяли методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с использованием наборов «WT1 RQ Kit» (Inogene, Россия) и «АмплиСенс® Лейкоз Квант М-bcr-FRT» («АмплиСенс», Россия) соответственно. Всего было проанализировано 117 образцов КМ, полученных от пациентов с ОМЛ, и 54 образца КМ и ПК, полученных от пациентов с ХМЛ.

Результаты. Результаты мониторинга ГХ и уровня экспрессии гена WT1 расходились в 17 из 117 (14,5%) образцах КМ, полученных от пациентов с ОМЛ. В 12 из 17 образцов КМ отсутствие повышения уровня экспрессии гена WT1 сопровождалось обнаружением смешанного химеризма, тогда как в 5 образцах КМ на фоне полного донорского химеризма (ПДХ) наблюдалось повышение уровня экспрессии гена WT1.

Расхождение результатов мониторинга ГХ в образцах КМ и уровня экспрессии гена BCR-ABL1 в образцах ПК отмечено в 11 из 54 (20,3%) случаев при наличии ПДХ в КМ, что обусловлено, по-видимому, более высокой чувствительностью метода ОТ-ПЦР в реальном времени по сравнению с методом фрагментного анализа, используемым для оценки ГХ в КМ.

Выводы. Полученные результаты указывают на то, что ГХ лишь косвенно отражает МОБ независимо от исследуемого биологического образца при ОМЛ и ХМЛ. Однако принципиальные расхождения результатов ГХ и МОБ могут являться важным диагностическим критерием для оценки состояния пациента. Таким образом, комплексное определение ГХ и уровня экспрессии генов как биомаркеров МОБ в динамике позволяет наиболее эффективно выявлять осложнения алло-ТГСК на ранних стадиях.

А.Н. Кириенко, Е.В. Мотыко, Д.В. Кустова, И.В. Лепянен, Т.Н. Герт, Е.В. Ефремова, В.А. Шуваев, С.В. Сидоркевич, И.С. Мартынкевич

СЕКВЕНИРОВАНИЕ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ (NGS) У Rh-НЕГАТИВНЫХ ПАЦИЕНТОВ С МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

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

Введение. Определение «драйверных» мутаций в генах JAK2, CALR и MPL является золотым стандартом в молекулярной диагностике Rh-негативных пациентов с миелопролиферативными новообразованиями (Rh-МПН). Однако геномный ландшафт таких пациентов очень широк и стандартные методы не могут дать полного представления об особенностях течения и прогноза Rh-МПН, а иногда и подтвердить клональность

заболевания. Метод секвенирования последнего поколения (NGS) позволяет одновременно провести комплексный анализ обширной панели генов. Важным преимуществом NGS является возможность прочтения всего гена, включая области, не изучаемые стандартным методом секвенирования по Сэнгеру. Этот факт делает NGS важным инструментом в выявлении патогенных мутаций и прогнозировании течения заболевания у паци-

ентов с Ph-МПН.

Цель. Оценить возможности использования NGS в диагностике и определении прогностических особенностей течения заболевания у Ph-МПН пациентов.

Материалы и методы. В исследование включено 30 пациентов (12 мужчин и 18 женщин) в возрасте от 27 до 85 лет (медиана Me = 50 лет). Диагноз МПН, не ассоциированный с филадельфийской хромосомой (Ph-МПН), был ранее установлен у всех больных: ПМФ (17/30), ИП (3/30), ЭТ (7/30), МПН неуточненное – у 3/30 пациентов. Все пациенты были проанализированы на наличие мутаций в драйверных генах – в 18/30 (60%) случаях обнаруживалась мутация в гене JAK2 (V617F), 5/30 (16,6%) CALR, 3/30 (10%) MPL, 4/30 (13,3%) не имели мутаций ни в одном из драйверных генов (т.н. «тринегативный статус»). У всех пациентов секвенирование выполнялось с использованием миелоидной панели из 121 гена со средней глубиной прочтения 200х или 1000х на приборе MiSeq (Illumina). При анализе полученных данных применялся 3% порог частоты встречаемости аллеля (VAF). Клиническая значимость мутаций устанавливалась по базам данных COSMIC и ClinVar. Для анализа выживаемости использовали метод Каплана–Мейера с оценкой статистической значимости с помощью теста Кокса–Мантела.

Результаты. В ходе выполнения NGS анализа были выявлены генетические аномалии у всех исследуемых пациентов. При этом мутации соматической природы определены в 90% случаев (27/30), в среднем 5 мутаций у одного пациента (1 – 18 у одного больного). В 94% исследуемых проб (28/30) обнаруживались от 1 до 5 патогенных мутаций (Me=2). Для 2 из 4 пациентов, имеющих тринегативный статус, были найдены соматические

мутации, что позволило подтвердить с помощью NGS клональность заболевания и установить диагноз. У 15/26 пациентов были найдены патогенные мутации в «недрайверных» генах. Данные гены выполняют различные функции – эпигенетической регуляции (ASXL1 (7/30), TET2 (3/30), IDH1 (2/30), EZH2 (1/30) SETBP1 (1/30)), сплайсинга РНК (SRSF2 (2/30), U2AF1 (2/30), DDX3X (1/30)), передачи сигнала (CBL (1/30), EP300 (1/30), KRAS (1/30), APC (2/30)) и ремоделирования хроматина (ATRX (2/30)). Было показано, что наличие любой дополнительной патогенной мутации достоверно ($p = 0,046$) ассоциируется с прогрессированием заболевания в МФ, ОМЛ или ХММЛ. Патогенные варианты ASXL1 найдены у 23% (7/30) пациентов. Наличие мутаций в гене ASXL1 ассоциируется с ухудшением медианы общей выживаемости по сравнению с больными без мутации (94 месяца и 180 месяцев, соответственно, $p = 0,0281$). Важно отметить, что у двух пациентов были найдены дополнительные мутации в гене JAK2 (L611V и L977V), которые имеют неизвестную клиническую значимость по существующим базам данным. Однако обе эти мутации находятся в важных доменных областях JAK2 и в сочетании с драйверной мутацией JAK2V617F могут являться фактором неблагоприятного прогноза. Этот факт говорит о необходимости тщательной оценки данных, полученных при NGS секвенировании.

Выводы. Исследование мутационного профиля пациентов с Ph-МПН методом высокопроизводительного секвенирования позволяет подтвердить клональную природу заболевания. Применение метода NGS дает возможность прогнозировать течение заболевания и определить показания для алло-ТКМ, в том числе и у пациентов без драйверных мутаций с диагнозом МПН.

Е.В. Клеина¹, С.В. Волошин^{1,2}, Н.Ю. Семенова¹, С.Ю. Линников¹, Н.Н. Немсцверидзе¹, М.П. Бакай¹, А.П. Смирнова¹, Н.М. Лазарева¹, Е.В. Карягина³, О.С. Успенская⁴, И.С. Зюзгин⁵, С.С. Бессмельцев¹, С.В. Сидоркевич¹, И.С. Мартынкевич¹

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ АБЕРРАЦИЙ ПРИ МАНТИЙНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

¹ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА РФ, Санкт-Петербург

²ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург

³СПб ГБУЗ «Городская больница № 15», Санкт-Петербург

⁴ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург

⁵ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Мантийноклеточная лимфома (МКЛ) – агрессивная неходжкинская лимфома из зрелых В-лимфоцитов, характеризующаяся транслокацией t(11;14)(q13;q32), приводящей к гиперэкспрессии циклина D1. Однако изолированная транслокация t(11;14)(q13;q32) редко обнаруживается при МКЛ, гораздо чаще у пациентов определяется высокая частота нестабильности генома. В настоящее время ведется подробное изучение прогностической значимости хромосомных и генетических нарушений при МКЛ, в особенности патологического кариотипа, изменений генов MYC/8q24, TP53/17p13.

Цель. Выявить частоту встречаемости и определить прогностическое влияние на общую выживаемость (ОВ) и безрецидивную выживаемость (БРВ) изменений кариотипа, нарушений генов MYC/8q24 и TP53/17p13 у 117 пациентов с МКЛ.

Материалы и методы. Представлены результаты стандартного цитогенетического (СЦИ) и FISH-исследований 117 пациентов с диагнозом МКЛ. СЦИ выполнялось методом G-banding на клетках костного мозга или периферической крови. Транслокация t(11;14)(q13;q32), абберации, вовлекающие гены TP53/17p13, MYC/8q24, выявлялись FISH-исследованием с использованием локус-специфичных ДНК-зондов.

Результаты. При СЦИ проанализировать кариотип удалось у 80 больных МКЛ. Изменения кариотипа выявлялись в 36/80 (45,0%) случаев, при этом патологический кариотип с 1–2 хро-

мосомными нарушениями определялся у 15/36 (41,7%) пациентов, комплексный кариотип (КК) (3 и более хромосомные абберации) выявлялся у 21/36 (58,3%) больных. Высокоспецифическая транслокация t(11;14)(q13;q32) обнаруживалась в 32/36 (88,9%) случаев, при этом, у 28/32 (87,5%) пациентов наряду с транслокацией t(11;14)(q13;q32) детектировались дополнительные хромосомные абберации (ДХА). Статистический анализ показал достоверную ассоциацию наличия хромосомных аббераций в кариотипе со снижением медианы ОВ (62 месяца против 144, $p=0,002$). Выявление КК значимо снижало как медиану ОВ так и БРВ (49 месяцев по сравнению со 144 месяцами, $p < 0,001$ и 32 против 120 месяцев, $p = 0,019$). Для определения наличия и частоты встречаемости транслокации t(11;14)(q13;q32), изменений локусов генов TP53/17p13, MYC/8q24 117 пациентам с МКЛ проведено FISH-исследование. Транслокация t(11;14)(q13;q32) обнаруживалась у 82/117 (70,1%) больных, абберации гена TP53/17p13 – у 27/117 пациентов (23,1%) (24/27 (88,9%) – делеция TP53/17p13, 3/27 (11,1%) – моносомия хромосомы 17). В группе пациентов с изменениями TP53/17p13 кариотип проанализирован в 19/27 (70,4%) случаев. Патологический кариотип выявлялся у 15/19 (78,9%) пациентов, у 14/15 (93,3%) из которых обнаруживался КК. У 12/27 (44,4%) больных определялось сочетание нарушений генов TP53/17p13 и MYC/8q24. СЦИ, проведенное 11/12 (91,7%) таким пациентам,

в 8/11 (72,7%) случаев выявило КК. Важно отметить, что медианы ОВ и БРВ у больных с абберациями TP53/17p13 были достоверно короче чем в группе без изменений TP53/17p13 (28 месяцев против 144, $p < 0,001$ и 25 месяцев по сравнению со 137, $p = 0,005$). Абберации MYC/8q24 у пациентов в нашем исследовании выявлялись только методом FISH. Из 117 больных изменения с вовлечением MYC/8q24 детектированы у 29 (24,8%) (перестройка MYC/8q24 – 2/29 (7,0%), амплификация MYC/8q24 (от 1 до 14 дополнительных копий гена) – 23/29 (79,3%), амплификация MYC/8q24 с делецией теломерного участка MYC/8q24 – 3/29 (10,3%), амплификация MYC/8q24 с делецией центрального участка MYC/8q24 – 1/29 (3,4%)). Кариотип в данной группе больных проанализирован в 19/29 (65,5%) случаев. Нарушения кариотипа определялись у 9/19 пациентов (47,4%), из которых 8/9 (88,9%) – КК. У больных с изменениями MYC/8q24 выявлено достоверное снижение ОВ по сравнению с пациента-

ми без нарушений MYC/8q24 (43 месяца против 108, $p = 0,013$). Многопараметрический регрессионный анализ показал, что абберации гена MYC/8q24 оказывали ключевое, независимое от других параметров негативное влияние на ОВ больных с МКЛ ($b \pm SD = -0,21 \pm 0,08$, $p = 0,05$). Кроме того, при оценке БРВ также обнаружена наибольшая тенденция к негативному влиянию для изменений гена MYC/8q24 ($b \pm SD = -0,20 \pm 0,11$, $p = 0,30$).

Выводы. Таким образом, комплексный подход в генетической диагностике МКЛ с применением СЦИ и FISH-исследования позволяет детально оценить генетический профиль каждого пациента с МКЛ, определить цитогенетические и молекулярно-генетические характеристики опухолевого клона и обнаружить группу больных неблагоприятного прогноза, к которой относятся пациенты с комплексными изменениями кариотипа, абберациями генов MYC/8q24 и TP53/17p13.

Е.В. Клеина¹, С.В. Волошин^{1,2}, Н.Ю. Семенова¹, С.Ю. Линников¹, Н.Н. Немсверидзе¹, М.П. Бакай¹, А.П. Смирнова¹, Н.М. Лазарева¹, Е.В. Карягина³, О.С. Успенская⁴, И.С. Зюзгин⁵, С.С. Бессмельцев¹, С.В. Сидоркевич¹, И.С. Мартынкевич¹

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ АБЕРРАЦИЙ ГЕНА MYC ПРИ МАНТИЙНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

¹ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА РФ, Санкт-Петербург

²ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург

³СПб ГБУЗ «Городская больница № 15», Санкт-Петербург

⁴ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург

⁵ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Мантийноклеточная лимфома (МКЛ) – В-клеточная неходжкинская лимфома, характеризующаяся самой высокой частотой нестабильности генома и обнаружением значительного количества вторичных хромосомных и молекулярно-генетических аббераций. Вовлечение в лимфогенез МКЛ гена MYC/8q24, кодирующего протоонкогенный белок MYC, являющегося важнейшим фактором транскрипции, увеличивает онкогенный потенциал циклина D1, способствуя быстрой опухолевой прогрессии и ингибированию апоптоза. На сегодняшний день уделяется большое внимание оценке влияния на общую и безрецидивную выживаемость аббераций гена MYC/8q24 и исследованию высоко агрессивной подгруппы МКЛ, «double-hit» МКЛ, с сочетанием транслокации t(11;14)(q13;q32) и аббераций гена MYC/8q24.

Цель. Определить частоту встречаемости и прогностическое влияние на общую выживаемость (ОВ) и безрецидивную выживаемость (БРВ) изменений гена MYC/8q24 у 117 пациентов с МКЛ и выделить группу «double-hit» МКЛ.

Материалы и методы. Представлены результаты стандартного цитогенетического (СЦИ) и FISH-исследований 117 пациентов с диагнозом МКЛ. СЦИ выполнялось методом G-banding на клетках костного мозга или периферической крови. Транслокация t(11;14)(q13;q32), абберации, вовлекающие гены TP53/17p13, MYC/8q24, выявлялись FISH-исследованием с использованием локус-специфичных ДНК-зондов.

Результаты. Из 117 пациентов с МКЛ изменения гена MYC/8q24 обнаружены при FISH-исследовании у 29 больных (24,8%). Перестройка с вовлечением MYC/8q24 детектировалась у 2/29 (7,0%) пациентов, увеличение копийности MYC/8q24 (от 1 до 14 дополнительных копий) – 23/29 (79,3%), амплификация MYC/8q24 с делецией теломерного участка MYC/8q24 – 3/29 (10,3%), амплификация MYC/8q24 с делецией центрального участка MYC/8q24 – 1/29 (3,4%). У больных с абберациями MYC/8q24 кариотип удалось проанализировать в 19/29 (65,5%) случаев. Изменения кариотипа выявлялись у 9/19 пациентов (47,4%), из которых у 8/9 (88,9%) больных определялись комплексные изменения кариотипа (КК), 1/9 (11,1%) – пациент с

изолированной транслокацией t(11;14)(q13;q32). Выполнение FISH-исследования с ДНК-зондом к гену TP53/17p13 выявило у 11/29 (37,9%) пациентов данной группы изменения, вовлекающие TP53/17p13, делецию локуса гена TP53/17p13 и моносомию хромосомы 17. Статистический анализ определил, что абберации гена MYC/8q24 значимо снижали медиану ОВ у пациентов с МКЛ по сравнению с больными без изменений MYC/8q24 (43 месяца против 108, $p = 0,013$). Наиболее неблагоприятное влияние на продолжительность ОВ, которая составила 15 месяцев ($p = 0,028$), оказывало сочетание амплификации гена MYC/8q24 с делецией центрального участка MYC/8q24. Проведенный многопараметрический регрессионный анализ выявил независимое неблагоприятное влияние нарушенных MYC/8q24 как на ОВ пациентов с МКЛ ($b \pm SD = -0,21 \pm 0,08$, $p = 0,05$), так и наибольшую тенденцию к негативному влиянию при оценке БРВ ($b \pm SD = -0,20 \pm 0,11$, $p = 0,30$). В нашем исследовании выявлена особая группа пациентов МКЛ, «double-hit» МКЛ (22/117 (18,8%)), с изменениями MYC/8q24 и транслокацией t(11;14)(q13;q32). Кариотип в подгруппе «double-hit» МКЛ проанализирован у 16/22 (72,7%) больных. Патологический кариотип выявлялся у 9/16 (56,3%) пациентов, при этом 8/9 (88,9%) – больные с КК (от 4 до 23-25 аббераций). Методом FISH у 20/22 (90,9%) пациентов выявлялись от 1 до 14 дополнительных копий MYC/8q24, 1/22 (4,5%) – амплификация MYC/8q24 с делецией теломерного участка MYC/8q24, 1/22 (4,5%) – амплификация MYC/8q24 с делецией центрального участка MYC/8q24. В 10/22 (45,5%) случаев у больных определялись изменения гена TP53/17p13 (7/10 (70,0%) – делеция TP53/17p13, 3/10 (30,0%) – моносомия хромосомы 17).

Выводы. Результаты FISH-исследования у пациентов с ДНК-зондом к гену MYC/8q24 показали важность дополнения алгоритма диагностики и дифференциальной диагностики МКЛ скринингом на выявление прогностически неблагоприятных аббераций гена MYC/8q24, что также является необходимым для выделения особой подгруппы пациентов «double-hit» МКЛ с множественными хромосомными нарушениями кариотипа, изменениями гена MYC/8q24 и транслокацией t(11;14)(q13;q32).

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ КЛЕТКИ, СВЯЗАННЫЕ С РИСКОМ ПРОГРЕССИИ МОНОКЛОНАЛЬНОЙ ГАММАПАТИИ НЕУТОЧНЕННОГО ЗНАЧЕНИЯ

¹Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель

²Учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск

Введение. Моноклональная гаммапатия неутонченного значения (МГНЗ) – это бессимптомное предопухоловое состояние, предшествующее почти всем симптоматическим нарушениям плазматических клеток. Наиболее достоверным и информативным методом, позволяющим охарактеризовать опухолевую плазматическую клетку, выявить маркеры, влияющие на прогноз течения заболевания, является иммунофенотипическое исследование клеток костного мозга с использованием метода проточной цитофлюориметрии.

Цель. Изучить иммунофенотипические характеристики плазматической клетки при первичной диагностике у пациентов с МГНЗ с прогрессией.

Материалы и методы. В исследовании включены данные 122 пациентов с впервые выявленной МГНЗ, наблюдавшихся в ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» г. Гомель с 2018 по 2023 г. Иммунофенотипическое исследование выполнено с использованием диагностической панели, включавшей CD138, CD56, CD19, CD81, CD27, CD45, CD33, CD20, CD200, CD117, CD95. Медиана возраста составила 61,0 года (55,0 и 66,0). Из исследования были исключены пациенты с секрецией IgM. Диагноз МГНЗ и определение прогрессии во ММ соответствовало критериям Международной рабочей группы по множественной миеломе (IMWG).

Результаты. Прогрессия МГНЗ до ММ за период исследования верифицирована у 12 пациентов (9,7%). В группе с прогрессией преобладали пациенты с секрецией IgG (n = 7). При иммунофенотипическом исследовании костного мозга выявлены различные варианты экспрессии маркеров у пациентов МГНЗ с прогрессией и без прогрессии. Так более низкая экспрессия CD27, CD45, CD 95, и более высокая экспрессия CD56, CD117, CD200, а также потеря экспрессии разного уровня CD81, CD19 выявлена у пациентов с прогрессией заболевания в течение исследования. Время до прогрессии составило от 3 месяцев до трех лет. Основным признаком прогрессии чаще было появление множественных очагов деструкций. У 83,3% пациентов с

прогрессией МГНЗ на момент постановки диагноза была верифицирована разной степени утрата маркера CD19. Прогрессия МГНЗ определена в 3,4 раз чаще у пациентов с CD19 <70%, чем у пациентов из группы CD19 >70%, (p = 0,076, ОШ 3,79 (95% ДИ [0,79-18,12])).

Постепенная потеря маркера CD27 в нашем исследовании выявлена у пациентов с прогрессией в 100% случаев (p = 0,037 ОШ 1,45 (95% ДИ [0,61-3,46])). У 70% пациентов МГНЗ с прогрессией обнаружен CD56 позитивный иммунофенотип ПК и в 50,5% в группе без прогрессии (p = 0,094, ОШ 3,06 (95% ДИ [0,78-11,90])).

У пациентов с прогрессией превышение экспрессии CD117 встречалось 4,04 раза чаще, чем у пациентов без прогрессии (p = 0,001, ОШ 6,32 (95% ДИ [1,91-20,88])).

Мы обнаружили значительное снижение экспрессии антигена CD95, регулирующего многочисленные физиологические и патологические процессы и запрограммированную гибель клеток. У пациентов с прогрессией снижение экспрессии выявлено в 72,7% случаев (p = 0,012, ОШ 5,18 (95% ДИ [1,29-20,76])).

Экспрессия CD200 остается независимым прогностическим фактором по системе международного стадирования в отношении беспрогрессивной выживаемости у пациентов с множественной миеломой. По нашим данным, пациенты с прогрессией МГНЗ имели изначально высокую экспрессию CD200 – в 41,7% случаев. Прогрессия в данной группе определена в 2,59 раз чаще чем у пациентов без прогрессии (p = 0,048, ОШ 3,86 (95% ДИ [0,94-15,88])).

Заключение. В результате проведенного анализа была определена низкая экспрессия CD27, CD19, CD95, и более высокая экспрессия CD56, CD117, CD200 у пациентов с прогрессией МГНЗ в течение исследования. Данные маркеры, рассматриваемые в сочетании, могут быть использованы для определения группы с высоким риском прогрессии МГНЗ.

С.О. Коробов, Е.Л. Назарова, И.А. Докшина

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА CD14-159C>T ПРИ РАЗВИТИИ СЕПСИСА У ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

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

Введение. Сепсис — жизнеугрожающее состояние, характеризующееся дисфункцией органов вследствие дисрегуляции иммунного ответа при инфекции. Применение иммуносупрессивной терапии у больных гематологическими заболеваниями позволяет отнести этих пациентов к группе повышенного риска развития септических осложнений. Смертность, ассоциированная с сепсисом у больных гемобластозами, остается высокой, находясь на уровне 15-20%, обуславливая необходимость развития способов ранней диагностики этого осложнения. Известно, что функционирование врожденной иммунной системы находится под строгим генетическим контролем, регулирующим количественные и функциональные взаимоотношения с адаптивным иммунным ответом. Установлено, что основная часть индивидуальной генотипической изменчивости обусловлена

наличием однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs). Таким образом, выявление полиморфного статуса генов, задействованных в реализации противои инфекционного иммунитета, может играть важную роль в стратификации пациентов на группы риска развития сепсиса. Одним из маркеров, указывающих на развитие септических состояний, является пресепсин (CD14), белок, экспрессируемый на поверхности мембраны нейтрофилов, моноцитов и макрофагов, также имеющий растворимую форму. Повышение концентрации сывороточного или мембранного CD14 свидетельствует о развитии бактериального сепсиса, и может иметь прогностическое значение. Функционально значимым является полиморфизм промоторной области гена CD14 rs2569190 (-159C>T), приводящий к повышению экспрессии мембранной формы и увеличению концентрации сыворо-

точного CD14, таким образом модифицирующий риск развития сепсиса. Определение роли полиморфизма CD14-159C>T в возникновении септических осложнений может способствовать разработке новых генетически адаптированных диагностических и терапевтических опций.

Цель. Определить прогностическую роль полиморфизма гена CD14-159C>T в развитии сепсиса у больных гемобластозами.

Материалы и методы. Обследованы 72 пациента со злокачественными заболеваниями системы кроветворения, получавших лечение в клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России в период с 2019 по 2022 гг. Из них — 37 (51,4%) женщин, 35 (48,6%) мужчин. У 58 (80,5%) больных диагностирован острый миелоидный лейкоз, у 6 (8,3%) – острый лимфобластный лейкоз, у 4 (5,6%) – множественная миелома, у 4 (5,6%) – хронические миелопролиферативные заболевания. Генотипирование SNP rs2569190 проведено методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с наборами реагентов «SNP-Экспресс-ЭФ» (НПФ «Литех», Россия). Источником геномной ДНК являлись мононуклеары периферической крови и костного мозга. Статистическая обработка данных выполнена с использованием программ Libre Office Calc и RStudio (R v4.0.5). Сравнение наблюдаемой частоты встречаемости аллелей в исследуемой популяции с ожидаемыми частотами по закону распределения Харди-Вайнберга проведено при помощи критерия

согласия Пирсона. Оценка шанса развития сепсиса при носительстве различных генотипов локуса CD14-159C>T выполнена методом однофакторной логистической регрессии.

Результаты. Тридцать два пациента (44,4%) явились носителями генотипа CD14-159CC, 29 (40,3%) – CD14-159CT, 11 (15,3%) – CD14-159TT. Септические осложнения диагностированы у 14 (19,4%) больных на этапах индукционной и консолидирующей терапии. Распределение аллелей исследуемого полиморфизма соответствовало закону Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 0,001$, $p = 0,999$). В связи с небольшим числом гомозиготных носителей минорного аллеля T определены взаимосвязи развития септических состояний с наличием полиморфизма гена CD14 проведено методом логистической регрессии с использованием доминантной модели. В результате анализа установлено, что риск развития сепсиса у носителей минорного аллеля (генотипы CT + TT) в 6 раз ниже, чем у носителей гомозигот дикого типа CC ($p = 0,008$, ОШ 0,15, 95% ДИ 0,03-0,61).

Выводы. Разработка методов ранней диагностики септических состояний с использованием молекулярно-генетического подхода является актуальной задачей. Носительство генотипа 159CC гена CD14 статистически значимо ассоциировано с высоким риском развития септических осложнений у гематологических больных. Необходимы дальнейшие исследования для определения независимого вклада SNP CD14-159C>T в развитие сепсиса.

*Н.Е. Корсакова, О.Ю. Матвиенко, Н.Н. Силина, О.Г. Головина,
Е.В. Ефремова, С.В. Волошин, И.С. Мартынкевич*

ОСОБЕННОСТИ ВРЕМЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК НАЧАЛЬНОГО ЭТАПА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНЫМ МИЕЛОФИБРОЗОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МУТАЦИОННОГО СТАТУСА ГЕНОВ JAK2 И CALR

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

Введение. Мутации в генах янускиназы 2 (JAK2) и каль-ретиккулина (CALR) играют значимую роль в патогенезе Рн-негативных миелолиферативных новообразований, в том числе первичного миелофиброза. Известно, что у больных миелофиброзом мутация JAK2V617F ассоциирована с большей выраженностью спленомегалии, повышенным числом тромбоцитов и снижением выживаемости, в то время как наличие мутаций в гене CALR сопровождается более низкими значениями по шкале DIPSS-plus, низкой встречаемостью анемии и лейкоцитоза, а также меньшей склонностью к трансфузионной зависимости. Кроме указанных проявлений, существенной клинической проблемой у пациентов с первичным миелофиброзом является развитие как тромботических, так и геморрагических осложнений. В отличие от истинной полицитемии и эссенциальной тромбоцитемии, данных по связи мутаций в гене CALR и JAK2V617F с тромботическим риском, а также с изменениями коагуляционных параметров у больных первичным миелофиброзом (ПМФ) недостаточно.

Цель. Провести сравнительную оценку влияния мутационного статуса генов JAK2 и CALR на параметры генерации тромбина у пациентов с первичным миелофиброзом.

Материалы и методы. В исследование было включено 36 пациентов с ПМФ (возраст 28-86 лет, медиана 57 лет). У 23 больных (63,9%) выявлена мутация JAK2V617F (возраст 37-86 лет, медиана 54,5 года), 13 пациентов (36,1%) имели мутации в гене CALR (возраст 28-77 лет, медиана 62 года). Выявление мутаций проводили методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции. В бедной тромбоцитами плазме обследованных больных проводили определение параметров теста генерации тромбина методом калиброванной автоматизированной тромбинографии по Nemkeg Н.С. Параллельно осуществляли генерацию тромбина без тромбомодулина и с добавлением

рекомбинантного человеческого тромбомодулина. Оценивали такие показатели, как время инициации свертывания (Lag time, мин.) и время достижения пиковой концентрации тромбина (Time to peak, мин.) Результаты представляли в виде медианы и межквартильного интервала. Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи программного пакета STATISTICA 6.0, для сравнения групп по количественным признакам применяли U-тест Манна-Уитни, для сравнения частот использовали точный критерий Фишера, различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Среди пациентов с первичным миелофиброзом, позитивных по мутации JAK2V617F, тромбозы в анамнезе отмечены у 4 человек (17,4%), среди носителей мутаций в гене CALR тромботические осложнения имел 1 больной (7,7%), $p = 0,395$, что указывает на определенную тенденцию к повышению частоты тромбозов у пациентов с ПМФ при наличии мутации JAK2V617F. Геморрагические осложнения отмечались у 2 пациентов с ПМФ с мутацией JAK2V617F (8,7%) и у 2 больных с мутациями в гене CALR (15,4%), $p = 0,459$. У JAK2V617F-позитивных пациентов с ПМФ выявлена выраженная тенденция к уменьшению времени инициации свертывания в тесте генерации тромбина относительно больных с мутациями в гене CALR как в постановке без тромбомодулина [4,67 (4,00-5,59) мин. против 5,33 (5,00-6,26) мин., $p = 0,093$], так и при добавлении тромбомодулина в реакционную смесь [4,83 (4,00-5,50) мин. против 5,83 (5,00-6,07) мин., $p = 0,055$]. Сходные изменения были характерны для показателей времени достижения пиковой концентрации тромбина [8,17 (7,25-9,34) мин. против 9,33 (8,33-11,17) мин., $p = 0,121$] и [7,67 (7,00-8,75) против 9,00 (7,83-9,67), $p = 0,081$] соответственно.

Выводы. Уменьшение времени инициации свертывания и времени достижения пиковой концентрации тромбина, наблю-

даемое в тесте генерации тромбина у пациентов с первичным миелофиброзом, позитивных по мутации JAK2V617F, может указывать на склонность к ускорению процессов тромбообразования в данной группе больных, что может способствовать повышению тромботического риска по сравнению с носителями

мутаций в гене CALR. Тем самым, молекулярно-генетический статус может иметь прогностическую ценность для оценки риска развития тромботических осложнений у пациентов с первичным миелофиброзом. Выявленные особенности требуют дальнейшего изучения.

Е.А. Кузьмина, Б.В. Бидерман, Е.Ю. Челышева, Е.А. Степанова, О.А. Шухов, А.Н. Петрова, И.С. Немченко, М.А. Гурьянова, А.В. Быкова, А.В. Кохно, А.Г. Туркина, А.Б. Судариков

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОМНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ABL1 МЕТОДОМ NGS У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ И Ph+ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Введение. Одной из причин резистентности к ингибитору тирозинкиназы (ИТК) у больных хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ) и Ph+ острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) является появление мутаций в гене ABL1, поэтому важно выполнять их поиск при неудаче терапии. Для этой цели в последние годы широко используется секвенирование следующего поколения (NGS). Согласно общепринятым методикам, для NGS используется мРНК BCR::ABL1, что позволяет обнаруживать мутации с аллельной нагрузкой (VAF) около 3%, тогда как чувствительность секвенирования по Сэнгеру (СС) составляет около 15-20%. Между тем, РНК чувствительна к денатурации и требует нескольких этапов обратной транскрипции и амплификации, что может привести к ошибкам полимеразы и ложнопозитивным результатам. Использование для NGS геномной ДНК могло бы стать альтернативой методу, однако стоит отметить, что при этом происходит амплификация ABL1 как из перестроенного аллеля, так и из нерестроированного аллеля ABL1 опухолевых клеток, а также гена ABL1 здоровых клеток. Поскольку ДНК более стабильна и может точнее показывать наличие клона и его эволюцию, методология NGS на основе геномной ДНК для обнаружения и мониторинга мутаций киназного домена (КД) ABL1 может иметь значение в клинической практике.

Цель. Изучить методологию NGS на основе геномной ДНК для обнаружения мутации КД ABL1 у пациентов с резистентным/рецидивирующим течением ХМЛ/Ph+ ОЛЛ.

Материалы и методы. Проведен анализ 39 образцов периферической крови от 30 пациентов с ХМЛ/Ph+ ОЛЛ, у 9 пациентов было по два образца. Большинство образцов было получено от пациентов с ХМЛ (37/39). Все пациенты получали ≥ 2 линий ИТК и имели неудачу терапии ИТК. У двух пациентов с Ph+ ОЛЛ был рецидив заболевания на момент анализа. ДНК выделяли стандартным солевым методом. Синтезировано семь пар праймеров для следующих экзонов гена ABL1: 4, 5, 5+6, 6, 7, 8, 9. Полученные ампликоны использовались для создания библиотек NGS с помощью наборов Nextera XT (Illumina, США) и были проанализированы на приборе MiSeq (Illumina, США). Филь-

трование данных, удаление служебных последовательностей, картирование прочтений, поиск и аннотирование вариантов осуществляли при помощи утилит с открытым исходным кодом Trimmomatic, BWA, SAMtools, Vardict и Annotvar. Были проанализированы варианты, помеченные как патогенные в базе данных Franklin by Genoos.

Результаты. Медиана уровня транскрипта BCR::ABL1 среди 39 образцов составила 34% (диапазон 0,1-129%). Мутации BCR::ABL1 были обнаружены методом NGS в геномной ДНК 19-ти (49%) образцов: в 13 из них – T315I, остальные варианты мутаций: F359V, Q252H, T315I+E255K, M244V, A337T. Минимальный уровень химерного транскрипта BCR::ABL1, при котором были обнаружены мутации, составил 1%. Контрольное одномоментное исследование с помощью СС или NGS на основе РНК выполняли для 37 из 39 образцов. В 34 из 39 образцов мутационный статус, определенный с помощью NGS на основе геномной ДНК, был подтвержден в контрольном исследовании, в трех образцах отмечены расхождения. Пятнадцать мутаций, обнаруженных с помощью NGS на основе ДНК, совпали с СС-контролем и 3 - с NGS-контролем на основе РНК. Один образец с мутацией A337T, обнаруженной с помощью NGS в геномной ДНК с VAF 3%, не имел контроля для сравнения. В 3 образцах мутации не были обнаружены с помощью NGS на основе геномной ДНК, однако, они выявлялись СС или методом NGS на основе РНК.

Выводы. Методика обнаружения мутаций КД BCR::ABL1 с помощью NGS на основе геномной ДНК, как альтернатива методу NGS на основе РНК, показала многообещающие результаты, в большинстве случаев подтвержденные методом СС или NGS на основе РНК. Метод воспроизводим и может быть легко реализован в лабораторных условиях. В случаях, когда доступ к РНК ограничен ввиду разных причин (затраты, транспортировка на большие расстояния/время, наличие биобанка только ДНК для ретроспективного анализа) преимущества технологии очевидны. Для подтверждения эффективности методики и внедрения ее в клиническую практику требуются дальнейшие исследования на большей выборке и в сравнении с методом NGS на основе РНК.

Е.О. Куневич, И.С. Мартынкевич, Е.В. Мотыко, А.Ю. Кувшинов, С.В. Волошин, С.Ю. Линников, И.И. Кострома, С.В. Сидоркевич

ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МУТАЦИЙ ГЕНА EZH2 У БОЛЬНЫХ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЛИМФОМОЙ

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

Введение. Фолликулярная лимфома (ФЛ) – неходжкинская В-клеточная лимфома, происходящая из трансформированных клеток герминальных центров лимфатических фолликулов. Мутации гена EZH2 встречаются с частотой до 25% у пациентов с ФЛ и связаны с усилением ферментативной активности белка.

Подавляющее число мутаций представляет собой единственную аминокислотную замену тирозина в 646 положении на фенилаланин (Y646F) каталитического домена. Разработанный недавно пероральный селективный ингибитор EZH2 (Таземетостат) продемонстрировал высокую эффективность как в ис-

следованиях *in vitro*, так и в рамках клинических исследований, обладая при этом благоприятным профилем безопасности для пациентов с рецидивирующими и рефрактерными индолентными неходжкинскими лимфомами. Всё вышеизложенное позволяет считать мутации гена EZH2 возможным предиктором эффективности стандартной иммунохимиотерапии и одной из основных мишеней терапевтического воздействия у больных ФЛ.

Цель. Оценить частоту встречаемости мутаций гена EZH2, их влияние на эффективность терапии и выживаемость пациентов с фолликулярной лимфомой.

Материалы и методы. В исследование проспективно включено 80 пациентов (медиана возраста 55 лет) с морфологически подтвержденной фолликулярной лимфомой, проходивших лечение в гематологической клинике РосНИИГТ в период с 2019 по 2022 гг. Мутационный статус 16 экзона гена EZH2 оценивали с помощью секвенирования по Сэнгеру на автоматической капиллярной системе MegaBACE 1000 DNA Analysis System (Amersham Biosciences, Великобритания). Полученный результат секвенирования анализировали в программах Vector NTI и UGENE. Перестройки генов BCL2, BCL6 и TP53 оценивали с помощью FISH метода.

Результаты. Частота мутаций гена EZH2 составила 16,3% (n = 13). У всех пациентов отмечалась миссенс-мутация в кодоне 646 с заменой аминокислоты тирозина на другую аминокислоту. Обе группы пациентов были идентичны по клиническим параметрам и вариантам проводимой терапии (равное соотношение программ RB и R-CHOP). У пациентов с мутацией EZH2 чаще отмечалась t(14;18) – 61,5% (95% ДИ: 31,6-86,1) против 36,9% (95% ДИ: 25,3-49,8), p = 0,1. Частота сочетаний мутации EZH2 с перестройками гена BCL6 и del17p/TP53 достоверно не различалась, p > 0,4. У пациентов с мутацией EZH2 медиана объема опухолевой массы (определялась как сумма перпендикулярных диаметров 6 целевых очагов – SPD) после проведенного лечения составила 523 см² (10 и 90 перцентили: 277; 2892), редукция объема опухолевой массы по динамике изменения SPD со-

ставляла -62,7% (10 и 90 перцентили: -90,5; НД). В группе дикого типа SPD после лечения равнялась 525 см² (10 и 90 перцентили: 277; 2892), а редукция опухолевой массы составила -88,0% (10 и 90 перцентили: -96,6; -37,0), что достоверно лучше, чем в группе с мутацией, p = 0,017 и 0,084 соответственно.

Общая 2-летняя выживаемость (ОВ) не различалась в обеих группах, p = 0,875, и в группе дикого типа равнялась 83,6%, в группе с мутацией – 84,6%. Длительность 2-летней выживаемости без прогрессирования (ВБП) и бессобытийной выживаемости (БСВ) была выше в группе с мутацией гена EZH2 и составила 76,9% (95% ДИ: 46,2-95,0; медиана не достигнута) для обоих показателей. В группе дикого типа отмечалась тенденция к ухудшению 2-летней ВБП и БСВ – 62,8% (95% ДИ: 50,0-74,2; медиана не достигнута) и 58,9% (95% ДИ: 45,5-70,2; медиана не достигнута) по сравнению с группой с мутациями гена EZH2, однако различия недостоверны, p = 0,361 и 0,236 соответственно. Двухлетняя выживаемость без рецидива (ВБР) в группе больных с мутацией составила 90,0% (95% ДИ: 55,5-99,8; медиана не достигнута), в группе дикого типа – 72,7% (95% ДИ: 55,9-86,2; медиана не достигнута), однако различия недостоверны, p = 0,273.

В однофакторном регрессионном анализе Кокса мутация гена EZH2 в отношении 2-летних ВБП, ВБР и БСВ выступала в качестве благоприятного прогностического признака, относительный риск составил 0,57, 0,33 и 0,49 соответственно, однако различия недостоверны, p < 0,3.

Выводы. Частота встречаемости мутаций гена EZH2 соответствует ранее опубликованным данным и в настоящем исследовании составила 16,3%. У больных с мутацией гена EZH2 отмечается более высокая частота сочетанной встречаемости с t(14;18). Пациенты с наличием данной мутации характеризуются лучшими показателями ВБП, ВБР и БСВ по сравнению с группой дикого типа. Наличие мутации снижает риск развития прогрессии и рецидива ФЛ в 2 и 3 раза соответственно. Однако у пациентов с мутацией гена EZH2 отмечаются более низкие темпы регрессии объема опухолевой массы.

Е.О. Куневич, И.С. Мартынкевич, Е.В. Мотыко, М.А. Михалева, С.В. Волошин, С.В. Сидоркевич

ИЗУЧЕНИЕ МУТАЦИОННОЙ НАГРУЗКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КАСТОМНОЙ ЛИМФОИДНОЙ ТАРГЕТНОЙ NGS-ПАНЕЛИ У ПАЦИЕНТОВ С ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЛИМФОМОЙ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

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

Введение. С внедрением секвенирования нового поколения (NGS) в клиническую практику оценка мутационной нагрузки опухоли (ТМВ) стала новым биомаркером для определения показаний к назначению ингибиторов иммунных контрольных точек при некоторых солидных новообразованиях и при лимфоме Ходжкина. Несмотря на то, что к настоящему моменту проведено достаточно клинических испытаний по оценке эффективности иммунотерапии, данных по изучению ТМВ при различных типах лимфом недостаточно. Данное обстоятельство послужило поводом к планированию текущего исследования у пациентов с фолликулярной лимфомой (ФЛ).

Цель. Оценить прогностическую значимость мутационной нагрузки у пациентов с фолликулярной лимфомой с помощью кастомной лимфоидной таргетной NGS-панели.

Материалы и методы. В исследование включено 25 пациентов (медиана возраста 54 года) с морфологически подтвержденной фолликулярной лимфомой, проходивших лечение в гематологической клинике РосНИИГТ в период с 2019 по 2022 гг. NGS выполнено с использованием оригинальной таргетной лимфоидной панели, включающей 118 генов, на платформе NextSeq (Illumina, США) методом парно-концевого чтения. Минимально необходимая глубина прочтений была определена на

уровне в ≥100 прочтений, а значимую частоту встречаемости аллеля (VAF) считали равной ≥2%. Клиническую значимость мутаций устанавливали с использованием баз данных COSMIC, ClinVar, gnomAD с применением анализа *in silico*.

Результаты. У всех обследуемых пациентов отмечались генетические аберрации. Всего выявлено 128 мутаций, имеющих клиническое значение, в 48 генах. Среднее число мутаций в 1 гене составило 2,7 (95% ДИ: 1,9-3,4). Наибольшая частота мутаций отмечалась в генах: KMT2C – 52%, KMT2D – 48%, CREBBP – 32%, NOTCH2 – 32%, GNAS – 24%, FAT1, ITPKB и KDR – по 20%. Миссенс мутации встречались с частотой 83,6%, нонсенс – 5,5%, синонимичные – 4,7%, мутации со сдвигом рамки считывания – 4,9%, другие – 2,3%. Медиана частоты мутантных аллелей (VAF) составила 8,96% (25 и 75 перцентили: 3,83-36,77%).

С целью определения прогностической значимости всех выявленных мутаций у каждого пациента, была рассчитана мутационная нагрузка опухоли. ТМВ определялась как количество мутаций на 1 мегабазу (Mb). Длина экзонов всех 118 исследуемых генов составила 602917 пар оснований или 0,603 Mb. Медиана ТМВ равнялась 5,0 мутаций/Mb. С целью определения порогового значения опухолевой нагрузки в отношении предсказания исходов 2-летней общей выживаемости (ОВ) и бес-

событийной выживаемости (БСВ), был проведен ROC-анализ. Площадь под кривой (AUC) в анализе прогнозирования ОВ равнялась 0,735 (95% ДИ: 0,516-0,947), $p = 0,035$. Чувствительность модели при значении ТМВ = 5,8 мутаций/Мб составила 75,0%, специфичность – 70,6%. По данным однофакторного регрессионного анализа (параметры модели: $\chi^2 = 4,336$, $p = 0,037$) относительный риск для фактора «высокая мутационная нагрузка» составил 3,8 (95% ДИ: 1,0-14,2), $p = 0,052$. В отношении 2-летней БСВ были получены аналогичные результаты: AUC = 0,727 (95% ДИ: 0,518-0,936), $p = 0,033$, чувствительность при значении ТМВ 5,8 мутаций/Мб составила 72,7%, специфичность – 78,6%. При удовлетворительных показателях чувствительности и специфичности обе модели имели сравнительно одинаковую предсказательную ценность. Таким образом с помощью ROC-анализа было определено пороговое значение ТМВ, в соответствии с которым все пациенты разделялись на 2 группы: пациенты с низкой мутационной нагрузкой (до 5 мутаций включительно на 1 Mb) – 14 (56%) больных, и пациенты с высокой ТМВ (6 и более

мутаций на 1 Mb) – 11 (44%) больных. Обе группы значимо не различались по клиническим параметрам и вариантам проводимой терапии, $p > 0,5$.

Двухлетняя общая выживаемость была ниже в группе ТМВ и составила 62,3% (95% ДИ: 30,8-89,1) по сравнению с 90,9% (95% ДИ: 66,1-99,8) в контрольной группе, $p = 0,098$. Также группа ТМВ характеризовалась более низкой 2-летней бессобытийной выживаемостью – 27,3% (95% ДИ: 6,0-61,0; медиана 11,0 мес), что достоверно меньше, чем у пациентов с низкой мутационной нагрузкой – 72,7% (95% ДИ: 41,9-91,6; $p = 0,037$).

Выводы. Показано, что при ФЛ чаще мутируют гены эпигенетической регуляции транскрипции: KMT2C, KMT2D, CREBBP и др., с медианой VAF равной 8,96%. Определен алгоритм оценки мутационной нагрузки опухоли у пациентов с фолликулярной лимфомой. Установлено, что высокая ТМВ является значимым прогностическим фактором в отношении общей и бессобытийной выживаемости.

*Д.В. Кустова¹, А.Н. Кириенко¹, Е.В. Мотыко¹, И.В. Леппянен¹, Т.Н. Герт¹, В.А. Шуваев¹,
Е.В. Ефремова¹, Е.А. Морозова², С.В. Сидоркевич¹, И.С. Мартынкевич¹*

СЕКВЕНИРОВАНИЕ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ (NGS) В ДИАГНОСТИКЕ BCR::ABL-НЕЗАВИСИМЫХ МУТАЦИЙ У БОЛЬНЫХ ХМЛ

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова», Санкт-Петербург

Введение. Ингибиторы тирозинкиназ (ИТК) успешно применяются для лечения больных хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ). Несмотря на существование нескольких поколений ингибиторов, у некоторых пациентов может развиться резистентность к ИТК. Одна из причин резистентности наличие мутации в киназном домене химерного гена BCR::ABL, тем не менее BCR::ABL-независимые механизмы развития резистентности до сих пор неизвестны.

Цель. Исследовать BCR::ABL-независимые мутации у больных ХМЛ с резистентностью к ИТК с использованием современных молекулярно-генетических технологий.

Материалы и методы. В анализ включено 45 пациентов. Группа из 34 пациентов с резистентным течением ХМЛ (17 мужчин и 17 женщин) в возрасте от 14 до 74 лет (Me = 44) и контрольная группа из 11 пациентов (5 мужчин и 6 женщин), ответивших на лечение ИТК, в возрасте от 33 до 75 лет (Me = 58). Для пациентов обеих групп проводилось исследование мутационного статуса гена BCR::ABL. Наличие резистентности к терапии ИТК оценивали по критериям ELN 2021. В группе с резистентностью: 10 пациентов получали терапию двумя линиями ИТК, 14 пациентов – тремя ИТК, 7 пациентов – четырьмя ИТК, 3 пациента – пятью ИТК (Me = 3). При цитогенетическом исследовании у больных с резистентностью к ИТК были обнаружены дополнительные хромосомные aberrации: трисомия 8 хромосомы (4/34), моносомия 7 хромосомы (2/34), удвоение Ph-хромосомы (2/34). В контрольной группе трисомия 8 хромосомы выявлена у двух пациентов. Всем пациентам было проведено NGS исследование миелоидной панели. Миелоидная панель включает 118 генов, со средней глубиной прочтения 1000x на приборе MiSeq (Illumina). Клиническая значимость найденных мутаций оценивалась по базам данных COSMIC, ClinVar, VarSome и InterVar. Для анализа выживаемости использовали модель регрессии Кокса.

Результаты. В группе с резистентностью к терапии с помощью NGS исследования генетические аномалии с неясной клинической значимостью обнаружены у всех пациентов: в среднем

по 3 мутации (от 1 до 6 у одного пациента). Наиболее часто такие мутации встречаются в опухолевом супрессоре NF1 (14), генах-регуляторах процесса транскрипции TET2 (14) и ATRX (11) и гене когезионного комплекса STAG2 (8), опухолевом супрессоре BRCA2 (2). Патогенные мутации выявлены в гене PTPN11 (1), участвующем в активации клеточного сигнального пути Ras/MAPK, генах эпигенетической регуляции EZH2 (1) и ASXL1 (4), протоонкогене RHOA (1), транскрипционном факторе RUNX1 (1) и гене, участвующем в метилировании ДНК DNMT3A (1).

В контрольной группе не выявлено патогенных мутаций, а мутации с неизвестной клинической значимостью обнаружены у 81% пациентов. Наиболее часто мутации встречались в генах NF1(4) и TET2(3).

Регрессионный анализ показал значимое влияние ($p = 0,0041$) сочетания дополнительных хромосомных aberrаций и патогенных мутаций в генах PTPN11, ASXL1, RUNX1 на общую выживаемость. У одного пациента выявлено сочетание патогенных мутаций в генах ASXL1 и RUNX1, а также моносомия 7 хромосомы, несмотря на три линии терапии, произошло прогрессирование заболевания до бластной фазы через 9 месяцев после постановки диагноза.

У двух пациентов, не имеющих дополнительных хромосомных aberrаций, обнаружены мутации с неизвестной клинической значимостью в генах ATRX и STAG2. Большой молекулярный ответ у данных больных так и не был достигнут спустя четыре линии терапии.

Мутации в генах ATRX и STAG2 часто встречаются у больных с резистентным течением к терапии ИТК и, вероятно, могут принадлежать клону лейкоэмических стволовых клеток.

Выводы. Современные молекулярно-генетические технологии позволяют обнаружить генетические аномалии, влияющие на течение заболевания и значительно ухудшающие выживаемость. Применение метода NGS может выявить возможные BCR::ABL-независимые пути развития резистентности к ИТК.

МУТАЦИИ ГЕНОВ ВТК И PLCG2 У БОЛЬНЫХ ХЛЛ С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К КОВАЛЕНТНЫМ ИНГИБИТОРАМ ВТК

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Городская клиническая больница имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы, Москва

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Введение. Ингибиторы тирозинкиназы Брутона (ВТК) показали высокую эффективность при лечении хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), однако у некоторых пациентов развивается резистентность к этим препаратам, что приводит к прогрессии заболевания и неэффективности лечения. Устойчивость к ковалентным ВТК связана с приобретенными мутациями C481S/F/Y в 15 экзоне гена ВТК, а также с мутациями в гене PLCG2. Описаны и другие мутации в гене ВТК, которые потенциально могут приводить к рефрактерности. Исследование мутационного статуса генов ВТК и PLCG2 у пациентов с рефрактерным ХЛЛ, получающих терапию ВТК, может помочь в разработке новых терапевтических стратегий.

Цель. Изучение спектра мутаций генов ВТК и PLCG2 у больных с ХЛЛ с устойчивостью к ковалентным ВТК с использованием секвенирования следующего поколения (NGS).

Материалы и методы. В исследование были включены образцы ДНК, выделенные из крови 49-ти больных с рецидивом ХЛЛ на терапии ВТК: 31 мужчин и 18 женщин (средний возраст 65 лет). 46 больных получали ибрутиниб и 3 – акалабрутиниб. Медиана продолжительности терапии ВТК до прогрессии ХЛЛ составила 34,5 месяца (5,8-73 месяца). Всем больным был выполнен поиск мутаций с помощью NGS в генах ВТК (11, 15, 16 экзоны) и PLCG2 (19, 20, 24 экзоны) и рассчитаны частоты аллельных вариантов (variant allelic frequency, VAF).

Результаты. Наиболее распространенная мутация с.1442G>C в гене ВТК была обнаружена у 29 больных (59%), а мутация с.1442G>T – у 3 (6%). При этом, в 7 случаях (14%) было выявлено от двух до четырех мутаций одновременно в кодоне C481 гена ВТК. Другие участки гена ВТК подвергались мутациям значительно реже. У 1 больного была выявлена единственная мутация p.L528W:c.1583T>G (VAF 3,1%) в 16 экзоне

гена ВТК. У одного больного были обнаружены одновременно 2 мутации в разных экзонах гена ВТК: p.C481S:c.1442G>C (VAF 33%) и p.T316A:c.946A>G (VAF 0,55%). В 2 случаях мы одновременно обнаружили мутации в генах ВТК и PLCG2. У 1 больного были выявлены мутации p.C481S:c.1442G>C, VAF 25% в гене ВТК и p.L845F:c.2535A>C, VAF 3,4% в гене PLCG2. Еще у 1 больного были обнаружены одновременно три мутации в гене ВТК: p.C481S:c.1442G>C (VAF 30%), с.1442G>T (VAF 8%), с.1442G>A (VAF 2%) и одна в гене PLCG2 - p.L845F:c.2535A>C (VAF 1,6%). Время до прогрессирования у пациентов с мутациями было значительно больше по сравнению с пациентами без мутаций (медиана 38,7 месяца (9–73) против 25,5 месяца (5,8–57), p = 0,04). Только у одного больного была выявлена мутация p.C481S:c.1442G>C в гене ВТК при VAF>1% в течение первого года лечения; у 21 (72%) больного мутации выявлены спустя 24 месяца терапии.

Выводы. Мы обнаружили мутации в генах ВТК и/или PLCG2 у 67% больных с прогрессией ХЛЛ на фоне терапии ВТК, у 33% больных причина резистентности на настоящее время не установлена. При этом большинство мутаций в нашей выборке были выявлены в кодоне C481 гена ВТК у пациентов с рецидивом ХЛЛ спустя 2 года терапии ВТК. Поскольку клинические проявления устойчивости к ВТК проявляются в среднем через 1-2 года, мы предлагаем проводить регулярный мониторинг мутаций в генах ВТК и/или PLCG2 с помощью АС-ПЦР и NGS каждые 3 месяца, начиная со второго года лечения данными препаратами у больных с ХЛЛ. Так как раннее выявление предиктора прогрессии заболевания может являться ценной информацией для клиницистов с целью рассмотрения альтернативных вариантов терапии до клинических проявлений. Также необходимы дальнейшие исследования других потенциальных маркеров устойчивости к ВТК.

С.Ю. Линников¹, А.Д. Гарифуллин^{1,3}, А.В. Шмидт¹, И.С. Мартынкевич¹, С.В. Волошин^{1,2}

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЕНЕТОКЛАКСА У ПАЦИЕНТА С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

²Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Введение. Множественная миелома (ММ) — гетерогенное заболевание с различными показателями выживаемости в зависимости от наличия определенных генетических аномалий. Среди больных ММ примерно у 16–24% можно обнаружить транслокацию t(11;14)(q13;q32), которая относится к наиболее частым хромосомным транслокациям. Исследование клиники Маю показало, что при проведении стандартной химиотерапии общая выживаемость больных с ММ, ассоциированной с t(11;14) была ниже, чем у пациентов со стандартным риском, даже не смотря на проведение аутологичной трансплантации

гемопозитических стволовых клеток (ТГСК) в ранние сроки. За последние несколько лет было разработано множество высоко-селективных ингибиторов семейства BCL2, что привело к одобрению первого препарата этого класса, венетоклакса, для лечения таких гемобластозов, как хронический лимфоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, а также мантийноклеточная лимфома, при которой аномалия t(11;14)(q13;q32), встречается, в среднем в 87 %. Венетоклак в ходе клинических исследований показал многообещающие результаты при лечении пациентов с ММ, имеющих транслокацию t(11;14).

Цель. Определить возможность проведения и эффективность таргетной терапии у больных ММ при выявлении t(11;14).

Материалы и методы. Пациент П, возраст на момент постановки диагноза (Множественная миелома, IgA, lambda, III-B ст. (DSS); ISS III; делеция гена RB1 (13q14) (24%) /18.09.2012/; стандартный риск) – 53 года. 1 линия терапии: VD#4 (с 05.04.2012) с достижением частичного ответа, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) 15.02.2013, полный ответ от 22.04.2023, поддерживающая терапия леналидомидом до 2019 года. Рецидив от 17.10.2019, FISH: Перестройка локуса гена IGH/14q32- в 3,0% ПК. Терапия 2 линии: CVD#4 (с 05.12.2019) с достижением очень хорошего частичного ответа. Прогрессирование от 07.10.2020. Рестадирирование: ISS III, R-ISS II, перестройка локуса гена IGH/14q32 (1,0%) /19.11.2020. Терапия 3 линии: salvage аутологичная ТГСК 23.11.2020, поддержка леналидомидом, частичный ответ от 02.03.2021. Прогрессирование от 25.10.2022. Цитогенетическое исследование: 46, XY[20]. FISH: Перестройка локуса гена IGH/14q32 выявлена в 8,5% ПК. В 12,5% клеток – транслокация t(11;14)(q13.3;q32.3). В 4,5% ПК – амплификация локуса гена IGH/14q32 (1 дополнительный сигнал). В качестве сдерживающей терапии – CVD#1 с 16.12.2022.

FISH /14.02.2023/: транслокация t(11;14)(q13.3;q32.3) – в 30% ПК. С учетом выявленной генетической аномалии, двойной рефрактерности к леналидомиду и бортезомибу, инициирована терапия 4 линии (с 16.02.2023): венетоклак+даратумумаб+дексаметазон.

Результаты. У пациента с рецидивирующей ММ на фоне терапии 4 линии достигнуто выраженное клиническое улучшение в виде купирования болевого синдрома, расширения двигательной активности, редукция М-компонента с 16,97 до 5,3 г/л (редукция на 68%, частичный ответ). Значимая клиническая, биохимическая и гематологическая токсичность отсутствует.

Выводы. Венетоклак является эффективным средством для лечения ММ, ассоциированной с t(11;14) и приводит к быстрому и глубокому ответу у пациентов, в том числе сильно предлеченных. Тем не менее, в настоящее время остается несколько нерешенных вопросов, касающихся практических аспектов использования венетоклакса, таких как влияние на возможность заготовки стволовых клеток, эффективность у пациентов с t(11;14) с другими сопутствующими цитогенетическими аномалиями высокого риска, включая del(17p), оптимальной продолжительности терапии и отдаленных эффектов.

Т.В. Макарик, И.С. Февралева, Е.Е. Никулина, Е.А. Степанова, С.А. Треглазова, А.А. Морозов, И.Н. Суборцева, Н.И. Зозуля, А.В. Кохно, А.Л. Меликян, С.М. Куликов, А.Б. Судариков

МАРКЕРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ТРОМБОТИЧЕСКИМИ СОБЫТИЯМИ ПРИ RH-НЕГАТИВНЫХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» МЗ РФ, Москва

Введение. Известно, что течение rh-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний (ХМПЗ): истинной полицитемии (ИП), эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ) и первичного миелофиброза (ПМФ) сопровождается частыми неблагоприятными сосудистыми явлениями, включая тромбозы и кровотечения. В большинстве случаев тромботические события ассоциированы с мутацией V617F гена JAK2, в меньшей степени с мутациями в генах CALR, MPL и 12-ом экзоне гена JAK2. С другой стороны, хорошо известна роль мутаций генов факторов свертываемости крови: протромбина (FII G20210A и FII Thr165Met), фактора V Лейдена (FV G1691A), фермента фолатного цикла метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR C677T и MTHFR A1298C), ферментов фибринолитической системы, в том числе ингибитора активатора плазминогена (PAI-1 4G/5G) в склонности к формированию и рецидивированию тромбозов. Однако встречаемость этих генетических маркеров предрасположенности к развитию тромбозов и особенности их проявления именно при ХМПЗ изучены недостаточно.

Цель. Оценка влияния генетических маркеров наследственной тромбофилии на риск тромботических осложнений у пациентов с ХМПЗ.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное исследование пациентов, наблюдавшихся в период с ноября 2016 по февраль 2023 гг. в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» МЗ РФ, Россия. В исследовании было включено 4199 пациентов, которым был проведен скрининг на маркеры наследственной тромбофилии. В этой когорте было выявлено 780 пациентов, с подозрением на ХМПЗ и 319 пациентов с тромботическими событиями в анамнезе. Выделение ДНК и РНК проводили из 5-10 мл крови и костного мозга с использованием стандартной солевой экстракции и с помощью набора реагентов «Рибо-золь-Д» (ИЛС, Россия). Мутацию JAK2 V617F количественно определяли с помощью «Набора реагентов для обнаружения мутации V617F G/T гена JAK2» (Синтол, Россия). Мутации MPL W515L/K оценивали с помощью «Набора реагентов для определения мутации W515L/K гена MPL» (Синтол, Россия). Для проведения амплификации использовали прибор Rotor Gene (Германия). Делеции/инсерции 9 экзона гена

CALR анализировали фрагментным анализом с чувствительностью не менее 3%. Все случаи были протестированы на rh-негативность с использованием набора реагентов «Реверта-Л» и «АмплиСенс вариант FRT» (Интерлабсервис, Россия). Анализ генетических мутаций маркеров тромбофилии (FII G20210A, FV G1691A, MTHFR C677T, MTHFR A1298C и PAI-1 4G/5G, а также FII Thr165Met) проводили методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (АС-ПЦР) на приборе CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, США). Клиническая и лабораторная информация выгружалась из МИС и лабораторной базы данных и импортировалась в рабочие наборы данных SAS. Сортировка, обработка и сливание отдельных наборов в файл анализа осуществлялись средствами программирования DATA Step SAS. В процессе анализа использованы методы описательной статистики и частотного анализа.

Результаты. По результатам статистического анализа встречаемость мутаций генов наследственной тромбофилии в общей группе (4199 пациентов) существенно не отличается от соответствующих данных в мировой литературе. 319 (7,6%) пациентов имели в анамнезе какие-либо тромботические события (инфаркты, тромбозы, ТЭЛА и другие нарушения кровообращения). Распределение пациентов (367) с подтвержденным диагнозом ХМПЗ (критерии ВОЗ 2016 г.) по нозологическим группам выглядит следующим образом: истинная полицитемия – 28% (102), эссенциальная тромбоцитемия – 18% (66), первичный миелофиброз – 16% (60), другие ХМПЗ – 38% (139). Наибольшее количество тромбозов наблюдалось у пациентов с мутацией V617F в гене JAK2 – 78% (43 из 55). Мутации в генах CALR и MPL встретились у пациентов с тромботическими событиями в анамнезе в 9,3% (4) и 7,9% (3) случаев, соответственно. Нами не обнаружено существенных различий во встречаемости мутаций в генах FII G20210A, FV G1691A, MTHFR C677T, MTHFR A1298C и PAI1 4G/5G в общей группе и группе пациентов с ХМПЗ. Однако было установлено, что мутация Thr165Met в гене протромбина достоверно увеличивает риск тромботических осложнений в 3 раза (p = 0,03). Если эта мутация в общей группе у пациентов с тромботическими событиями встречалась в 2,4% случаев, то в группе пациентов с подтвержденным диагнозом

ХМПЗ и с тромботическими событиями – в 7,4% случаев.

Выводы. Наличие мутации Thr165Met в гене FII в исследуемой группе пациентов с ХМПЗ показало статистически значимую ассоциацию с риском возникновения тромботических

осложнений. Необходимы дальнейшие исследования для правильного подбора антикоагулянтной терапии у пациентов с ХМПЗ, имеющих данную мутацию.

Е.В. Мотыко¹, А.Н. Кириенко¹, Д.В. Кустова¹, А.М. Раджабова¹, О.С. Успенская², Е.В. Карягина³, В.А. Шуваев¹, С.В. Волошин¹, С.В. Сидоркевич¹, И.С. Мартынкевич¹

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ СВФ-ОМЛ МЕТОДОМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

¹ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

²ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург

³ГБУЗ «Городская больница № 15», Санкт-Петербург

Введение. Случаи острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) с участием основного связывающего фактора (СВФ) включают ОМЛ с t(8;21) и inv(16)/t(16;16), ведущими к образованию химерных генов RUNX::RUNX1T1 и СВФВ::MUN11, соответственно. Клинически пациенты с СВФ-ОМЛ характеризуются хорошим ответом на химиотерапию с высоким уровнем выхода в полную ремиссию (ПР) и показателем десятилетней общей выживаемости (ОВ) до 60%. Однако рецидивы возникают в 40% случаев СВФ-ОМЛ, что указывает на клинико-патологическую гетерогенность в этой подгруппе ОМЛ. Таким образом, исследования СВФ-ОМЛ современными молекулярно-генетическими методами является актуальным для лучшего понимания патогенеза заболевания и предсказания рисков его прогрессирования.

Цель. Исследовать молекулярно-генетический профиль пациентов СВФ-ОМЛ с использованием метода NGS (высокопроизводительного секвенирования) и оценить влияние наиболее часто встречающихся aberrаций на прогноз.

Материалы и методы. Исследовано 46 больных СВФ-ОМЛ. Двадцать четыре больных с t(8;21) и 22 пациента с inv(16), все больные с de novo ОМЛ, медиана возраста составила 40 лет (18-60лет). Пробы анализировали методом высокопроизводительного секвенирования на приборе MiSeq с использованием набора TruSight Myeloid Sequencing Panel (Illumina, США) для создания библиотек ампликонов. Разработана таргетная панель, состоящая из 118 генов. Клиническая значимость мутаций устанавливалась по базам данных COSMIC, ClinVar, Varsome.

Результаты. Найдены 97 мутаций в 48 из 118 генов-мишеней: у больных ОМЛ с t(8;21) – 60 мутаций, с inv(16) – 37 мутаций. В 21 гене мутации были обнаружены более 2х раз. У 95,8% больных с t(8;21) и 95,5% пациентов с inv(16) выявили по крайней мере 1 мутацию. В среднем, у больных ОМЛ с t(8;21) находили значительно больше мутаций, чем у пациентов ОМЛ с inv(16) – 2,6 против 1,9 мутаций, соответственно (p = 0,04). У больных ОМЛ с t(8;21) мутированы 41 различных гена, с inv(16) – 19 генов содержали мутации. У 73% больных с t(8;21) были обнаружены дополнительные хромосомные перестройки – в основном потеря половой хромосомы (-X/-Y – 8б-х), del(9q) – у 2 б-х, +8 – у 1 б-ой; у 69% больных с inv(16) не было дополнительных хромосомных aberrаций, у остальных находили – +22, +8, del(17q), t(3;11).

Мутации в RTK/RAS сигнальных путях были наиболее рас-

пространенными событиями при двух типах СВФ-ОМЛ, с наибольшей частотой встречаемости в NRAS+KRAS (26,1%; t(8;21) – 12,5%; inv(16) – 40,9%), KIT (19,6%; t(8;21) – 20,8%; inv(16) – 18,2%) и FLT3 (4,3%; t(8;21) – 0%; inv(16) – 9,1%). Выявлены специфические паттерны мутаций: при ОМЛ с inv(16) чаще мутировал кодон Q61 в гене NRAS (5/8), в то время как при ОМЛ с t(8;21) чаще мутировали кодоны G12/G13 (2/2). ОМЛ с inv(16) чаще ассоциировался с изменениями в FLT3 (TKD) по сравнению с группой ОМЛ с t(8;21) (9,1% против 0%).

Для больных ОМЛ с t(8;21) найдены мутации в генах эпигенетической регуляции – ASXL1 (16,7%) и EZH2 (4,2%), метилирования ДНК – DNMT3A (4,2%), комплекса когезии – RAD21 (8,3%) и SMC3 (8,3%), MGA (16,7%), вовлеченный в сигнальный путь MYC, SH2B3 (8,3%), SETBP1 (8,3%), которые отсутствовали при ОМЛ с inv(16). У пациентов с ОМЛ с inv(16) aberrации генов вовлеченных в модификацию хроматина были редкими событиями (в гене ASXL1 – 0%), как и мутации относящихся к комплексу когезии, которые отсутствовали во всех случаях.

У 45,7% пациентов с СВФ-ОМЛ выявлены мутации в генах, активирующих сигнальные пути, исследована прогностическая значимость таких мутаций. Обнаружено значительное увеличение риска возникновения рецидива у больных с такими мутациями по сравнению с пациентами без них (Me = 11,3мес., Me = 14,2мес., соответственно; p = 0,046). У больных с мутациями в гене KIT безрецидивная выживаемость была значимо хуже, чем у больных без мутации (p = 0,031).

Выводы. Пациенты с ОМЛ с t(8;21) и inv(16) имеют высокогетерогенный молекулярно-генетический профиль, со своими характерными генетическими особенностями в каждой из подгрупп. Наиболее часто при СВФ-ОМЛ встречаются мутации в генах, активирующих внутриклеточные сигнальные пути с участием тирозинкиназ – N/KRAS, KIT и FLT3. Наличие данных мутаций негативно влияет на безрецидивную выживаемость пациентов с СВФ-ОМЛ. Использование современных молекулярно-генетических технологий, таких как метод NGS, дает возможность получить развернутую характеристику мутационного профиля для каждого больного, что является критически важным для больных СВФ-ОМЛ, с учетом высокой частоты встречаемости у них мутаций и появления эффективной таргетной терапии.

Е.Л. Назарова, Е.В. Трегубова, В.И. Шардаков, Н.В. Минаева

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

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

Введение. Объектом опухолевой трансформации при множественной миеломе (ММ) является клетка-предшественница

В-лимфоцита, а, именно, клетка, прошедшая этапы антиген-зависимой дифференцировки, переключения изотипов Н-цепей и

гипермутаций V-региона иммуноглобулинов, которая способна дифференцироваться до конечного этапа – плазмочита, секретирующего моноклональный иммуноглобулин. В последнее время медиана выживаемости больных ММ увеличилась и превысила 5 лет. В качестве критериев прогноза течения ММ изучены самые разные конституциональные и клинико-лабораторные показатели пациентов, основанные на этих параметрах системы стадирования. В последние годы особое внимание все больше уделяется генетическим факторам. Специфические цитогенетические аномалии в опухолевых клетках в виде транслокаций, вовлекающие локус тяжелой цепи иммуноглобулинов на хромосоме 14q32 и одну из пяти хромосом-партнеров 11q13, 4p16.3, 6q21, 16q23 и 20q11, выявляют у 65% пациентов с ММ. Изучение генетических и суррогатных предикторов прогноза ММ продолжается до сих пор. Их комбинации между собой используют в разных системах стадирования, изучается комплексное влияние прогностических факторов на течение заболевания и эффективность проводимой терапии.

Цель. Определить независимые молекулярно-генетические прогностические факторы течения множественной миеломы на основании анализа полиморфизма генов иммунного ответа.

Материалы и методы. Обследованы 192 больных ММ. Из них 83 (42,2%) мужчины и 109 (56,8%) женщин с медианой возраста 57 лет (диапазон: 27 – 85 лет). Период наблюдения (Ме) за больными составил 25,5 мес. (0 – 175 мес.). В течение этого времени 3 (1,6%) пациента с «тлеющей» ММ находились под наблюдением. 189 больным проведено от 1 до 69 (Ме 10 курсов)

противоопухолевого лечения, в том числе 54 (28,1%) пациентам выполнена высокодозная химиотерапия с последующей однократной и 33 (17,2%) – с тандемной трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. Изучен полиморфный статус 15 генов иммунного ответа в качестве независимых предикторов эффективности терапии (общей (ОВ), безрецидивной (БРВ), беспрогрессивной (БПВ), бессобытийной выживаемости (БСВ)). Полиморфизм генов иммунного ответа выполнен методом ПЦР с аллель-специфичными праймерами на момент постановки диагноза. Анализ прогностической значимости показателей проведен методом одно- и многофакторной бинарной логистической регрессии. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Установлены независимые прогностические критерии в виде полиморфизма генов TLR9-1237T>C и IL1β-511C>T, определяющие эффективность терапии больных ММ, независимо от существующих систем стадирования заболевания. Носительство полиморфных вариантов генов TLR9-1237T>C и IL1β-511C>T являлось благоприятным прогностическим маркером, поскольку увеличивало продолжительность ОВ ($p = 0,010$ и $p = 0,009$ соответственно), БРВ ($p = 0,004$ и $p = 0,032$ соответственно), БПВ ($p = 0,010$ и $p = 0,006$ соответственно), БСВ ($p = 0,025$ и $p = 0,016$ соответственно).

Выводы. Установленные особенности мутационного статуса генов IL1β-511C>T и TLR9-1237T>C, влияющие на течение заболевания, позволяют персонализировать лечебную тактику у больных ММ.

В.А. Овсепян, Ю.С. Лаптева, Д.А. Дьяконов

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЯДЕР КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА С НАЛИЧИЕМ И ОТСУТСТВИЕМ ПОЛИСОМИЙ ХРОМОСОМ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

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

Введение. Множественная миелома (ММ) – В-клеточная злокачественная опухоль, морфологическим субстратом которой являются плазматические клетки (ПК). При данной болезни выделяют первичные и вторичные цитогенетические аномалии в опухолевых плазматических клетках. Большинство первичных цитогенетических аномалий у пациентов с ММ являются транслокациями либо гипердиплоидиями. Первичные транслокации обычно включают локус гена тяжелой цепи иммуноглобулина на хромосоме 14 и один из нескольких партнерских хромосом, среди которых наиболее часто встречаются хромосомы 4, 6, 11, 14 и 20. В ~50% случаев обнаруживается гипердиплоидный клон клеток, включающий в себя дополнительные нечетные хромосомы 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 и 21. В отличие от первичных цитогенетических нарушений вторичные, такие как делеции 1p и 17p, а также трипликация/амплификация 1q, в диагностический период обычно не выявляются, поскольку приобретаются чаще всего в более поздние сроки ММ. Вторая пересмотренная международная система стадирования 2R-ISS предписывает выполнение исследования методом интерфазной флуоресцентной гибридизации in situ (fluorescence in-situ hybridization, FISH) на наличие аномалий высокого риска, таких как делеция 17p, трипликация/амплификация 1q и транслокации (4;14) и (14;16) для стратификации риска у больных ММ. Вместе с тем в связи с применением в последние годы новых терапевтических средств, согласно ряду исследований, следует признать оправданным тестирование гипердиплоидного статуса опухолевых плазмочитов, поскольку наличие такой аномалии способно нивелировать неблагоприятное влияние аномалий высокого риска, обеспечивая тем самым связанные с благоприятным исходом наилучшие результаты, в частности при лечении леналидомидом.

Цель. Провести сравнительный морфометрический анализ

ядер клеток костного мозга с наличием и отсутствием полисомий хромосом в интерфазных FISH-препаратах у больных множественной миеломой.

Материалы и методы. В исследование включены 20 пациентов с ММ, лечившихся в период с 2012 по 2020 гг. в ФГБУН КНИ-ИГиПК ФМБА России. Анализ клеток костного мозга на наличие полисомий по наиболее часто встречающимся численным аномалиям хромосом, а именно 5, 9 и 15, проводили методом FISH с использованием набора ДНК-зондов Vysis LSI D5S23, D5S721/CEP 9/CEP 15 FISH Probe Kit. Пороговые значения для проведения FISH-исследований приняты равными 10%. Фотографии ядер в FISH-препаратах получены с помощью программы GenASis FISH View. Диаметры интерфазных ядер определяли с помощью программы Rising View 3.7. У каждого пациента измеряли диаметры 40 ядер клеток костного мозга: 20 с наличием не менее двух полисомий по хромосомам 5, 9 и 15 и 20 ядер с отсутствием численных нарушений по указанным хромосомам. Межгрупповые различия оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни, используя пакет статистических программ SPSS Statistic 26. Результаты исследований представлены с указанием медианы, а также нижнего (25%) и верхнего (75%) квартилей.

Результаты. Выявлено межгрупповое различие в распределении диаметров интерфазных ядер клеток костного мозга в зависимости от наличия или отсутствия дополнительных копий хромосом. Установлено, что диаметры ядер с дополнительными копиями статистически значимо превышают таковые у ядер без них: 10,79 мкм [9,78;11,92] и 8,55 мкм [7,94;9,17] соответственно ($p < 0,001$).

Выводы. Зарегистрировано статистически значимое увеличение диаметров интерфазных ядер клеток костного мозга с наличием не менее двух полисомий по хромосомам 5, 9 и 15

по сравнению с ядрами с отсутствием указанных полисомий. Важным достоинством морфометрического подхода выявления гипердиплоидии является то, что данный подход значительно снижает финансовые и трудовые затраты. Кроме того, сочетание применения FISH-метода и морфометрического анализа дает возможность тестировать наличие соответственно цито-

генетических аномалий высокого риска и гипердиплоидии в одной клетке в рамках одного исследования без использования дополнительных ДНК-зондов. Такой подход не только повышает точность определения FISH-статуса опухолевых плазмодитов, но и способен в перспективе улучшить стратификацию пациентов на группы риска.

А.Н. Петрова, О.А. Шухов, Е.Ю. Челышева, М.А. Гурьянова, И.С. Немченко, А.В. Быкова, Е.А. Кузьмина, А.Г. Туркина

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ ПОЗДНИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ РЕЦИДИВОВ У БОЛЬНЫХ ХМЛ ПОСЛЕ ОТМЕНЫ ТЕРАПИИ ИТК

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва

Введение. Частота поздних молекулярных рецидивов у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) после прекращения терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) составляет 10-12% по данным литературы, что определяет необходимость пожизненного молекулярного контроля у этих пациентов. Значимым фактором, влияющим на вероятность развития ранних молекулярных рецидивов, является длительность терапии ИТК на момент отмены лечения. Поиск доступных и практических факторов прогноза поздних молекулярных рецидивов является важной задачей для более широкого внедрения опции наблюдения в ремиссии без лечения (РБЛ) в клиническую практику.

Цель. Проанализировать прогностические факторы развития поздних молекулярных рецидивов после отмены терапии ИТК у больных ХМЛ, участвующих в исследовании RU-SKI.

Материалы и методы. В проспективное исследование RU-SKI включено 98 больных ХМЛ с длительностью терапии любыми ИТК ≥ 3 лет, с глубоким молекулярным ответом (МО, BCR::ABL1 $\leq 0.01\%$ IS) длительностью ≥ 2 лет. Критерием молекулярного рецидива и показанием к возобновлению лечения являлась потеря большого молекулярного ответа (БМО, BCR::ABL1 $> 0.1\%$ IS) по результатам ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Поздним молекулярным рецидивом считали потерю БМО на сроке более 6 мес. после прекращения лечения и использовали для анализа 6-месячный лендмарк. Анализ выживаемости проводили методом Каплана-Майера. Кумулятивную частоту потери БМО рассчитывали методом оценки кумулятивной частоты событий (CIF) с использованием лог-ранк теста для сравнений и теста Грея для множественных сравнений. Различия считали статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$.

Результаты. Пятьдесят шесть (57%) из 98 пациентов сохраняли БМО к 6 месяцу наблюдения после отмены ИТК и были включены в исследование. Характеристика пациентов: 50 % мужчин, медиана (Ме) возраста на момент отмены 44 года (22 - 80 лет), Ме длительности терапии ИТК на момент отмены 8,8

лет (3 - 16,2 лет), 68% и 32% больных получали иматиниб и ИТК 2 поколения. В зависимости от максимального определяемого уровня BCR::ABL1 в течение первых 6 мес. после отмены ИТК пациенты подразделялись на группы: М03 n = 12, М04 n = 10, М04,5 n = 11, М05 (неопределяемый) n = 23.

У 8 (14%) из 56 пациентов впоследствии произошла потеря БМО на сроках от 8 до 47 мес (Ме срока потери БМО = 16 мес) при Ме наблюдения без терапии 55 мес (8-78 мес). Выживаемость без потери БМО составила 92% (ДИ 86-99%), 89% (ДИ 81-97%) и 84% (ДИ 73-94%) к 12, 36 и 60 мес с момента 6-месячного лендмарка соответственно.

Не было выявлено различий по вероятности развития поздних молекулярных рецидивов в зависимости от предшествующей длительности терапии ИТК. Вероятность развития поздних молекулярных рецидивов также не различалась в группах больных с неопределяемым (n = 23, М05) и определяемым уровнем BCR::ABL1 (n = 33) (p = 0,317).

Далее оценивалась вероятность развития поздних молекулярных рецидивов в зависимости от максимального уровня BCR::ABL1 в течение первых 6 мес. после отмены. Пациентов с М04, М04,5 и М05 объединили в 1 группу (М04 и глубже, n = 44) и сравнили с группой пациентов с М03 (потерей М04, n = 12). В группе пациентов с потерей М04 выявлена более высокая вероятность развития поздних молекулярных рецидивов: 50% против 7% у больных с уровнем М04 и глубже (различия значимы, p < 0,0001).

Выводы. Поздний молекулярный рецидив произошел только у 14% больных, сохранявших РБЛ в течение первых 6 мес наблюдения после отмены ИТК. Определяющим прогностическим фактором развития поздних молекулярных рецидивов является кинетика лейкозного клона в течение первых 6 мес. наблюдения без терапии, а именно потеря глубокого М04. Интересно отметить, что фактор длительности терапии ИТК на момент отмены не влияет на вероятность развития поздних рецидивов.

Попова А.Г.^{1,2}, Михайлов Е.С.¹, Смольякова Е.А.¹, Хертек С.Б.¹, Доронин В.А.¹

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОГРАММ VCD И VRD В ТЕРАПИИ ПЕРВОЙ ЛИНИИ БОЛЬНЫХ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ГРУППЫ ВЫСОКОГО РИСКА

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина» ДЗМ, Москва

² ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Введение. Несмотря на успехи в терапии множественной миеломы (ММ), данное заболевание остается неизлечимым. Одним из наиболее важных инструментов для стратификации больных с ММ является цитогенетическое исследование опухолевых плазматических клеток. Пациенты с изменениями кариотипа, характерными для группы высокого риска, независимо от достижения оптимального ответа на лечение имеют

неблагоприятный прогноз. Согласно современным данным, одной из предпочтительных схем индукционной терапии для больных ММ является комбинация бортезомиба, леналидомида и дексаметазона (VRD). Тем не менее, по данным Московского городского гематологического центра в Москве в качестве первой линии терапии ММ в 79% случаев применяется протокол VCD (бортезомиб, циклофосфамид, дексаметазон). Сравнение

эффективности данных режимов терапии ММ представляется актуальной задачей и требует дальнейшего изучения.

Цель. Провести сравнительный анализ влияния режимов индукционной терапии VCD и VRD на общую выживаемость (ОВ), бессобытийную выживаемость (БСВ) и глубину ответа у больных ММ группы высокого риска.

Материалы и методы. В настоящее ретроспективное исследование включен 71 пациент с впервые выявленной множественной миеломой группы высокого риска. Стратификация риска осуществлялась в соответствии с критериями mSMART 3.0. Пациенты были разделены на группы в зависимости от протокола индукционного лечения. Терапию в режиме VCD получили 45 пациентов, по протоколу VRD – 26. Противоопухолевый ответ оценивался в соответствии с критериями ответа на лечение Международной рабочей группы по ММ (IMWG, 2011). БСВ рассчитывалась от даты начала лечения до прогрессии заболевания, отсутствия ответа на терапию первой линии или смерти независимо от причины. Анализ выживаемости проводился по методу Каплана—Мейера. Сравнение групп пациентов проводилось с использованием критерия Манна-Уитни. Статистическую значимость различий выживаемости в исследуемых группах рассчитывали с помощью лог-рангового теста. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Медиана возраста пациентов на момент установки диагноза составила 61 год (диапазон 30-85 лет), 62% - женщины. Стадия I по ISS наблюдалась у 20 (28,2%) больных, стадия II – у 22 (31,0%), стадия III – у 29 (40,8%) человек. Аутологичная трансплантация костного мозга (аутоТКМ) проводилась 28 (39,4%) пациентам, из них 15 человек из группы, получившей индукционное лечение по схеме VCD, 13 – из группы VRD. Группы были статистически сопоставимы по полу, возрасту, стадии по ISS, наличию аутоТКМ в анамнезе ($p < 0,05$). Одна из цитогене-

тических аномалий высокого риска по классификации mSMART 3.0 была обнаружена у 46 (64,8%) пациентов, 15 (21,1%) больных имели две цитогенетические аномалии (Double-Hit), у 1 (1,4%) – три аномалии высокого риска (Triple-Hit), 7 пациентов (9,9%) не имели подобных цитогенетических аномалий, однако были отнесены к группе высокого риска в связи с наличием III стадии по R-ISS. В группе пациентов, которым проводились курсы VCD в первой линии, полная ремиссия (ПР) была достигнута у 6 (13,3%) больных, очень хорошая частичная ремиссия (ОХЧР) – у 10 (22,2%), частичная ремиссия (ЧР) – у 15 (33,3%), стабилизация заболевания (СЗ) констатирована у 12 (26,7%) пациентов, прогрессия заболевания – у 2 (4,4%). У пациентов, получающих терапию по схеме VRD, ПР достигнута у 3 (11,5%) больных, ОХЧР – у 10 (38,5%), ЧР – у 10 (38,5%) пациентов, СЗ – у 3 (11,5%). Таким образом, оптимальный ответ, включавший ПР + ОХЧР, среди пациентов, получивших VCD, был достигнут у 34,8% больных, в группе VRD – у 50,0% ($p < 0,05$). Медиана БСВ в группе пациентов, получивших VCD составила 5,9 месяцев, в группе VRD – 37,4 месяцев ($p < 0,05$, отношение рисков 1,865; 95%-й доверительный интервал 1,012– 3,438). При медиане времени наблюдения 12 месяцев медиана ОВ в группе VCD составила 88 мес., в то время как в группе VRD медиана ОВ достигнута не была, однако статистически значимых различий между исследуемыми группами получено не было ($p = 0,88$).

Выводы. Полученные данные демонстрируют, что режим VRD представляется более эффективной схемой индукционной терапии пациентов ММ группы высокого риска ввиду лучших показателей бессобытийной выживаемости. Достижение большей глубины ответа и продолжительности БСВ при применении VRD по сравнению с VCD характеризует эту схему как предпочтительную для терапии первой линии у больных ММ высокого риска.

А.М. Раджабова, Е.В. Мотыко, М.П. Бакай, А.А. Кузьева, М.Н. Зенина, И.С. Мартынкевич, С.В. Волошин

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И МОНИТОРИНГ ВЕЛИЧИНЫ АЛЛЕЛЬНОЙ НАГРУЗКИ FLT3-ITD ПРИ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗАХ

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

Введение. Индукционная терапия острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) позволяет достичь полной ремиссии (ПР) лишь в 60-80% случаев. Однако последующая 5-летняя выживаемость составляет около 40%. Принципиальная роль в прогнозе ОМЛ принадлежит хромосомным aberrациям и генетическим аномалиям, которые позволяют правильно стратифицировать больных не только на группы риска, тем самым оптимизировать интенсивность цитостатической химиотерапии (ХТ), своевременно запланировать проведение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), но и использовать весь арсенал таргетных лекарственных препаратов. Наиболее часто встречаемые мутации среди пациентов ОМЛ – FLT3 (ITD и TKD), которые рассматривают как потенциальные предикторы неблагоприятного прогноза течения заболевания.

Цель. Оценить влияние мутационного статуса FLT3 гена и величины аллельной нагрузки (АН) FLT3-ITD на течение ОМЛ.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное и проспективное исследование влияния мутационного статуса FLT3 гена на клинические особенности и течение заболевания у 199 пациентов с ОМЛ. Проанализирована динамика величины АН мутации в гене FLT3-ITD на фоне проведения стандартных программ ХТ и алло-ТГСК, а также влияние на показатели выживаемости у 91 пациента ОМЛ.

Результаты. В исследуемой группе больных ОМЛ частота встречаемости мутаций гена FLT3 составила 30,5% (FLT3-ITD – 24% (48/199), FLT3-TKD – 5,5% (11/199), сочетание FLT3-ITD

и FLT3-TKD – 1,0% (2/199)), остальные – 69,5% (138/199) пациентов не имели мутаций в гене FLT3. Выделены 2 группы в зависимости от величины АН мутаций в гене FLT3-ITD: с низкой АН ($< 0,5$) – $n=50$ (55%) и с высокой АН ($\geq 0,5$) – $n=41$ (45%). Пациенты, имевшие высокую АН в гене FLT3-ITD, по сравнению с пациентами с низкой АН, отличались высоким лейкоцитозом ($p < 0,001$) и бластозом костного мозга ($p = 0,04$). Процент снижения АН FLT3-ITD на фоне ХТ достоверно коррелировал с показателями безрецидивной выживаемости и ОВ ($r = 0,45$; $p < 0,01$ и $r = 0,46$; $p < 0,01$, соответственно). Достоверное уменьшение АН после ХТ по сравнению с данными до лечения выявлено только у пациентов с ПР заболевания ($p < 0,01$).

Мутации в гене NPM1 достоверно чаще выявлялись в группе пациентов FLT3-ITD – 37 (32,4 %) из 114 пациентов ($p = 0,0001$). Наличие мутации в гене FLT3 нивелировало благоприятное влияние NPM1, особенно при высокой нагрузке FLT3-ITD.

Применение алло-ТГСК в качестве терапевтической опции достоверно улучшает показатели ОВ: в группе с высокой FLT3-ITD после алло-ТГСК ($n = 15$) медиана наблюдения не была достигнута, а в группе без алло-ТГСК ($n = 10$) составила 2,5 мес. ($p = 0,00008$).

Выводы. Тщательное изучение молекулярно-генетических характеристик отдельных форм ОМЛ дает возможность своевременного назначения таргетных препаратов и проведения алло-ТГСК с целью улучшения результатов лечения и повышения общей выживаемости пациентов.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА С МУТАЦИЕЙ ГЕНА FLT3

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

Введение. Мутации гена FLT3, кодирующего FMS-подобную тирозинкиназу-3, являются довольно частым генетическим событием у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ). Наличие внутренней тандемной дупликации в околомембранном домене (FLT3-ITD) считается важным прогностическим фактором, относящим таких пациентов к группе промежуточного риска (по рекомендациям ELN-2022). Данные о влиянии точечных мутаций в тирозинкиназном домене (FLT3-TKD) на прогноз заболевания противоречивы. Дополнительные генетические аномалии у обследуемых с ОМЛ FLT3+ могут влиять на течение заболевания, длительность ремиссии, частоту рецидивов и эффективность терапии.

Цель. Охарактеризовать генетическую вариабельность случаев острого миелоидного лейкоза с мутацией гена FLT3.

Материалы и методы. Обследовано 209 пациентов с ОМЛ в период с декабря 2019 г. по январь 2023 г. Из них 118 (56,5 %) – при постановке диагноза, 91 (43,5 %) – при рецидиве или резистентной форме заболевания. Медиана возраста обследованных составила 52 года (Q1-Q3: 34-65). Выделение геномной ДНК из образцов костного мозга выполняли с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» (ФГБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Мутации генов FLT3 (ITD, TKD) и NPM1 исследовали методом фрагментного анализа, генов NRAS и KRAS – методом ПЦР в режиме «реального времени» с применением наборов реагентов «Real-time-PCR-NRAS-3R» и «Real-time-PCR-KRAS-7R» соответственно (ООО «БиоЛинк», Россия). Мутационный статус генов ASXL1 и TP53 определяли методом прямого секвенирования по Сэнгеру.

Результаты. В 26 из 209 (12,4 %) случаев ОМЛ выявлены мутации гена FLT3 (ITD, TKD). Из них в дебюте заболевания – у 18/209 (8,6 %) больных, при рецидиве заболевания – у 8/209 (3,8 %) пациентов. Проведен анализ распределения ОМЛ FLT3+ по различным морфологическим подтипам (согласно франко-американско-британской классификации): М4 вариант встречался в 11 из 26 (42,3 %) случаев, М2 – 10/26 (38,5 %), М1 – 4/26 (15,4 %) и М5 – 1/26 (3,8 %).

Мутация гена FLT3-ITD выявлена у 12/26 больных (9 случаев – при постановке диагноза, 3 – при мониторинге заболевания), FLT3-TKD – у 13/26 (9 случаев – в дебюте заболевания, 4 –

при резистентной форме заболевания или рецидивах). У одного пациента (3,8 %) на момент постановки диагноза обнаружены обе aberrации: внутренние тандемные дупликации в околомембранном домене и точечные мутации в тирозинкиназном домене. Среди случаев с FLT3-ITD у 5/12 (41,7 %) больных дополнительно обнаружены мутации гена NPM1, у 2/12 (16,7 %) пациентов выявлены неблагоприятные цитогенетические аномалии: в одном случае – транслокация t(6;9)(p22;q34), в другом – комплексный кариотип.

Генетический профиль больных ОМЛ-FLT3-TKD+ установлен более гетерогенным, чем ОМЛ-FLT3-ITD+. Обнаружены мутации генов NPM1 (2/13, 15,4 %), NRAS (2/13, 15,4%), TP53 (1/13, 7,7 %), ASXL1 (1/13, 7,7 %), KRAS (1/13, 7,7 %) и гиперэкспрессия гена WT1 (4/13, 30,7 %). При анализе цитогенетических аномалий у пациентов с мутацией гена FLT3-TKD выявлены трисомия 13 хромосомы (1/13, 7,7 %), транслокации t(8;21)(q22;q22) с экспрессией химерного онкогена RUNX1::RUNX1T1 (2/13, 15,4%), t(1;12)(q22;p13) (1/13, 7,7 %), инверсия хромосомы 3 и моносомия хромосомы 7 (1/13, 7,7 %), перестройка локуса KMT2A (11q23) (1/13, 7,7 %), а также комплексные нарушения кариотипа (2/13, 15,4 %). Необходимо отметить, что у 6/13 (46,2 %) больных выявлены прогностически неблагоприятные генетические аномалии согласно рекомендациям ELN-2022 (мутации генов TP53 и ASXL1; inv(3)(q21/q26,2); -7; перестройка локуса KMT2A (11q23) и комплексный кариотип).

Выводы. Больные ОМЛ с мутациями гена FLT3 представляют собой неоднородную по молекулярным и хромосомным аномалиям группу пациентов. Мутации гена FLT3-ITD в ряде случаев сочетались с aberrациями гена NPM1, мутации гена FLT3-TKD – с изменениями генов NPM1, KRAS, NRAS, TP53, ASXL1, экспрессией химерного онкогена RUNX1::RUNX1T1 и гиперэкспрессией гена WT1. В обеих группах FLT3 (ITD+, TKD+) обнаружены цитогенетические аномалии, относящиеся к неблагоприятным aberrациям. Дальнейшее изучение расширенного анализа генетического профиля ОМЛ-FLT3+, на наш взгляд, позволит установить дополнительные факторы прогноза течения ОМЛ, а также персонализировать лечебную тактику с применением таргетных препаратов.

С.С. Рюмин, М.В. Латыпова, Т.Ю. Грачева, Т.Л. Гиндина

ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМИ И ВТОРИЧНЫМИ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМИ СИНДРОМАМИ РАЗНЫХ ВОЗРАСТОВ

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачёвой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Миелодиспластические синдромы (МДС) – генетически гетерогенные клональные заболевания с общими морфофункциональными признаками: цитопенией, костномозговой дисплазией, неэффективностью гемопоэза, а также возможностью трансформации в острый миелоидный лейкоз. Для пациентов с первичными МДС, возникающими de novo, и вторичными МДС, развивающимися на фоне предшествующих анемических состояний, характерна кариотипическая нестабильность, которая проявляется в накоплении хромосомных аномалий (ХА) в геномах гемопоэтических стволовых клеток. Поиск цитогенетических маркеров, наиболее специфичных для

разных форм МДС, необходим для углубления представлений о путях эволюции кариотипа и механизмах патогенеза заболевания.

Цель. Изучить частоты встречаемости отдельных хромосомных аномалий у больных первичными и вторичными МДС в ассоциации с возрастом пациента.

Материалы и методы. В наше исследование были включены 922 пациента, проходивших обследование в клинике НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачёвой в период с 2012 по 2022 год с установленным диагнозом МДС. Пациенты были разделены на 5 возрастных групп: «детская» группа – 165 пациентов от 2 мес.

до 17 лет (медиана – 8 лет); группа «молодых взрослых» – 235 пациента от 18 до 44 лет (медиана – 34 года); группа «взрослых среднего возраста» – 244 пациента от 45 до 59 лет (медиана – 54 года); группа «пожилого возраста» – 211 пациентов от 60 до 74 лет (медиана – 66 лет); группа «старческого возраста» – 67 пациентов от 75 до 97 лет (медиана – 80 лет).

В ходе обследования были проведены: стандартное кариотипирование с GTG-дифференциальным окрашиванием хромосом, FISH с использованием ДНК-зондов для детекции делеции 5q, моносомии 7/делеции 7q, трисомии хромосомы 8. Для детальной идентификации сложных хромосомных перестроек в комплексных кариотипах (КК) на материале 43 пациентов была проведена многоцветная FISH с хромосом-специфичными (mFISH) и бэнд-специфичными (mBand) ДНК-зондами.

Результаты. Среди всех проанализированных наблюдений изменения кариотипа были выявлены у 432/922 пациентов (46,06%), среди которых у 149 больных МДС был обнаружен патологический клон с КК. Частота встречаемости ХА в «детской» группе была 41,82%, у «молодых взрослых» – 43,83%, у «взрослых среднего возраста» – 47,13%, у «пожилых» – 48,82%, а у «старческой» группы – 52,24%.

В ассоциации с возрастом пациента изменялся и цитогенетический профиль ХА. В «детской» возрастной группе наибольший вклад в некомплексные нарушения кариотипа вносили аномалии хромосомы 7 (36,23%), неконституциональные трисомии хромосомы 21 (8,70%), aberrации половых хромосом (5,80%). В старших возрастных группах аномалии хромосомы 7 встречались реже, в то время как доминирующие позиции занимали делеции 5q и 20q, структурные aberrации хромосом 1 и 3. Так, в группах «пожилых» и «старческого возраста» на долю

ХА 5q приходилось 13,59% и 25,71% соответственно. Встречаемость трисомии 8-й хромосомы с возрастом практически не изменялась (10,78% в «детской» группе и 11,43% в группе «старческого возраста»).

Частота встречаемости КК в отобранных группах растёт с возрастом пациента: в «детской» группе – 28,9%, у «молодых взрослых» – 35,92%, у «взрослых среднего возраста» – 36,52%, у «пожилых» – 41,75%, и только в «старческой» группе составляет 22,86%. При этом, для пациентов «детской» группы большинство КК представлены гипердиплоидными формами, в то время как в группах старших возрастов КК чаще гиподиплоидны. В формировании КК принимают участие с разной частотой все хромосомы. Чаще других в формировании количественных нарушений принимали участие хромосомы 7, 8 и 19, в то время как в структурные перестройки вовлекались сегменты хромосом 1q, 3q, 5, 7, 8, 11q, 12q и 13q. Так, для 3 пациентов с МДС, ассоциированным с с. Дауна, были выявлены дополнительные копии 1q и 11q. У пациента с МДС, ассоциированным с анемией Фанкони, в составе КК были выявлены дубликации и трипликации 1q и дополнительные копии 3q. У пациента с с. Швахмана-Даймонда в составе КК также были обнаружены транслокации с участием 1q и 3q.

Выводы. Миелодиспластические синдромы – генетически гетерогенные заболевания ГСК, для которых характерно появление вторичных цитогенетических нарушений. Частоты встречаемости отдельных ХА ассоциированы с возрастом пациента, а сами обнаруживаемые цитогенетические нарушения могут быть рассмотрены как физиологические адаптации генома патологической клетки к преодолению апоптотического «филтра» и поддержанию собственной клональности.

Ш.Г. Сабирова, Х.Я. Каримов, З.Б. Ахмедова

ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОСТАЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИ ДИЗАГРЕГАЦИОННЫХ ТРОМБОЦИТОПАТИЯХ

Республиканский специализированный гематологический научно-практический медицинский центр, Ташкент

Введение. Тромбоцитопатии (ТП) – группа заболеваний, характеризующаяся качественной неполноценностью и нарушением функции тромбоцитов. Известно, что до 80% всех случаев неясной кровоточивости связаны с патологией первичного звена, то есть сосудисто-тромбоцитарной системы гемостаза, в частности с ТП, в связи с чем данная патология представляет серьезную проблему для здравоохранения во всем мире до настоящего времени.

Цель. Изучить особенности состояния системы гемостаза у лиц с наследственной и приобретенной дизагрегационными тромбоцитопатиями.

Материал и методы. В исследование включено 90 пациентов с ДТП (50 – с наследственной дизагрегационной тромбоцитопатией (НДТП (тромбастиения Гланцмана)) и 40 – с приобретенной дизагрегационной тромбоцитопатией (ПДТП). Для контрольной группы были включены 48 условно здоровых лиц без патологии системы гемостаза (все обследуемые были в возрасте от 16 до 74 лет). Исследование системы гемостаза проводили на коагулометре HemaClotJunior (НС –4127, Germany) и анализаторе агрегации АЛАТ-2 «БИОЛА» (ААС 748, Россия) с использованием реактивов «НПО РЕНАМ, Россия». Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере с использованием пакета стандартных статистических программ "StatisticforWindows". Достоверными данные считались при уровне различия $p < 0,05$.

Результаты. Исследование состояния показателей гемостаза в группах обследуемых больных ДТП показало наличие нарушений, характеризующихся снижением свертывающей активности крови. Данный факт обоснован достоверным увеличением длительности кровотечения (ДК) в 4,1 раза в основной группе больных ДТП по сравнению с контрольной группой ($442,8 \pm 7,16$

сек против $109,15 \pm 3,46$ сек; $p < 0,05$). Со стороны изучаемых показателей системы гемостаза у обследуемых пациентов выявлены изменения, которые характеризуются в основной группе по отношению к контролю снижением агрегации тромбоцитов индуцированной АДФ (1 ммоль/л) в 3,2 и агрегации тромбоцитов индуцированной АДФ (0,5 ммоль/л) в 3,3 раза. При этом следует отметить, что снижение этих показателей регистрировалось в обеих исследуемых группах, но наиболее выражено отмечалось в группе пациентов НДТП. У больных ДТП со снижением агрегации тромбоцитов, в том числе, наблюдалось достоверное снижение и в адгезии тромбоцитов в 1,78 раза ($17,24 \pm 1,29\%$ против $30,67 \pm 0,80\%$; $p < 0,001$) в сравнении со значениями в контроле, что также подчеркивалось снижением ретракции кровяного сгустка ($0,33 \pm 0,01$ против $0,28 \pm 0,01$ в контрольной группе; $p < 0,05$). В отношении уровней АЧТВ, ТВ, фибриногена, ПТИ и XШа-зависимого фибринолиза между основной группой ДТП и контролем значимых различий не выявлено.

Таким образом, полученные нами результаты изучения состояния системы гемостаза у пациентов ДТП отражают наличие и степень нарушения функции тромбоцитов, что диктует необходимость проведения данных исследований для диагностики у пациентов с этой патологией. В свою очередь выявленные нарушения у больных ДТП являются ранним предвестником геморрагических осложнений.

Выводы. Результаты исследования определяют важную роль дисфункции тромбоцитов в диагностике нарушений функционирования системы гемостаза у пациентов ДТП. Выявленные нарушения со стороны показателей гемостаза в группе больных ДТП доказывают наличие снижения свертывающей активности крови, что является одним из патогенетических механизмов развития ДТП.

КЛИНИЧЕСКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЬНЫХ НАСЛЕДСТВЕННЫМИ И ПРИОБРЕТЕННЫМИ ФОРМАМИ ДИЗАГРЕГАЦИОННЫХ ТРОМБОЦИТОПАТИЙ

Республиканский специализированный гематологический научно-практический медицинский центр, Ташкент

Введение. Тромбоцитопатии (ТП) – гетерогенная группа заболеваний, наследственных и приобретенных качественных дефектов тромбоцитов, проявляющихся повышенной кровоточивостью, возникающей под влиянием разнообразных внутренних (генетические дефекты) и внешних факторов (инфекционные и вирусные заболевания, избыточная инсоляция, прием лекарственных средств, физическое напряжение и др.)

Цель. Изучение анамнестических особенностей и анализ клинических проявлений у больных с наследственной и приобретенной формой ДТП (ПДТП). Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с вычислением средней арифметической изучаемых показателей и ее стандартной ошибки, с использованием критерия достоверности по Стьюденту – Фишеру. Достоверными данными считали различия, при которых значение p было равно или меньше 0,05.

Материал и методы. Клиническим материалом для исследования послужили 90 больных с дизагрегационной тромбоцитопатией (ДТП), которые были подразделены на 2 подгруппы: 1-я ($n = 50$) – пациенты с наследственной формой ДТП (НДТП (тромбастения Гланцмана)) и 2-я ($n = 40$) – пациенты с приобретенной формой ДТП (ПДТП). Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с вычислением средней арифметической изучаемых показателей и ее стандартной ошибки, с использованием критерия достоверности по Стьюденту – Фишеру. Достоверными данными считали различия, при которых значение p было равно или меньше 0,05.

Результаты. Клинические исследования, проведенные у 90 больных с дизагрегационной тромбоцитопатией (ДТП), выявило некоторые особенности. При этом среди обследованных групп больные женского пола составили 66,7%, а мужского – 33,3%. Результаты исследования показали, что чаще всего ДТП проявляется носовым кровотечением, которое выявлялось в 42,2% случаях. Вместе с этим кожный симптом в виде петехии отмечался у 27,8% пациентов, десневое кровотечение и меноррагии наблюдались у 17,8% и 11,1%, кровотечения из желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у 1,1% обследованных больных ДТП. Сравнительный анализ частоты клинических симптомов между группами НДТП и ПДТП показал их выраженность у больных с наследственной формой заболевания. Так, в группе больных НДТП частота встречаемости петехиальных высыпаний составила 20,0%, носовое кровотечение – 41,2%, десневое кровотечение – 42,9%, меноррагии – 14,0%, кровотечения из ЖКТ – 2,4%, при этом у больных ПДТП в сравнение с подгруппой НДТП частота петехиальных высыпаний и носовое кровотечение отмечались чаще в 1,9 и 1,0 раз, тогда как, десневое кровотечение

и меноррагии наблюдались реже в 1,8 и 2 раза соответственно. Кровотечения из ЖКТ в этой группе практически не наблюдались.

Важно отметить, что в группе НДТП ($n = 50$) у 39 (78,0%) больных наблюдались периодические спонтанно возникающие носовые кровотечения 10 и более раз в год. При этом из 50 больных 28 (56,0%) обследуемых отмечали начало геморрагических проявлений в дошкольном возрасте, а в школьном периоде 22 (44,0%) обследованных с НДТП. При этом, в группе больных ПДТП ($n = 40$) периодические спонтанно возникающие носовые кровотечения с частотой до 5-6 раз в год наблюдались у 65 % (26) больных. В данной группе носовые кровотечения впервые отмечались в дошкольном и в школьном возрасте у 12,5% (5) и 17,5% (7) обследуемых, а в 70,0% (28) случаях во взрослом периоде.

Наличие одного геморрагического симптома наблюдалось у 56,7% (51) больных, медиана возраста которых составила $29,30 \pm 1,79$ лет ($p > 0,05$), двух симптомов у 31,1% (28) больных с медианой возраста $32,66 \pm 2,50$ ($p > 0,05$), трех симптомов у 10,0% (9) пациентов с медианой возраста $34,27 \pm 5,09$ ($p > 0,05$). Различия между количеством геморрагических симптомов оказалось не значимым.

Таким образом, на основании общего клинического обследования, установлена частая регистрация ДТП у взрослых в возрасте от 18 до 44 лет (71,1%). Заболевание в основном проявляется носовым кровотечением (59,0%) и петехиальной сыпью на кожных покровах (38,0%). Также важно отметить, что НДТП протекает с более выраженными геморрагическими проявлениями, наблюдаемыми в 56,0% случаях в дошкольном и 44,0% в школьном возрасте, тогда как ПДТП в 70,0% случаях проявлялась во взрослом периоде.

Выводы. Результаты исследования показали, что основными симптомами геморрагических проявлений при дизагрегационных тромбоцитопатиях, независимо от формы заболевания, являются носовые кровотечения и кожные геморрагии. Вместе с этим, с увеличением возраста ДТП приобретает более тяжелое течение, подтверждающим фактом которого являются достоверно наиболее выраженные клинические проявления заболевания ($p > 0,05$).

А.М. Садыков, И.М. Бархатов, Д.С. Буг, Л.С. Зубаровская, А.Д. Кулагин

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ЗНАЧЕНИЙ ТЕЛОМЕРНОГО КОМПЛЕКСА У ПАЦИЕНТОВ С ЭВОЛЮЦИЕЙ ОПУХОЛЕВОГО КЛОНА ПРИ МДС И ОМЛ

Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Миелодиспластический синдром (МДС) – это гетерогенная группа клональных расстройств системы кроветворения, возникающих вследствие накопленных мутаций в гемопоэтических стволовых клетках (ГСК). В случаях опухолевой трансформации клеток, обладающих клональным происхождением, характерно изменение пролиферативного потенциала, сопровождающееся изменением длины теломер. При этом остается неясным, за счет каких механизмов, помимо приобретенных соматических мутаций, опухолевая клетка при

миелолиферативных заболеваниях поддерживает свой пролиферативный потенциал, и как изменяется профиль экспрессии генов-регуляторов длины теломер: TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, POT1 и TPP1.

Цель. Проведение оценки изменения показателей длины теломер и экспрессии генов шелтеринового комплекса (TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, POT1 и TPP1) на фоне развития миелолиферативных заболеваний (МДС и ОМЛ).

Материалы и методы. Определение средней длины тело-

мер и уровня относительной экспрессии (ОЭ) генов шелтеринового комплекса проводилось в образцах ДНК и мРНК выделенных из ядросодержащих клеток костного мозга. Для оценки длины теломер и уровней ОЭ генов шелтеринового комплекса использовался метод ПЦР в режиме реального времени. В исследование было включено 85 пациентов с констатированной трансформацией в МДС и ОМЛ. Медиана возраста составила 52 года (38-58). Группа контроля состояла из 37 здоровых лиц с медианой возраста в 34 года (27-43). У всех пациентов были определены средние длины теломер и уровни ОЭ генов шелтеринового комплекса в образцах ДНК и мРНК соответственно.

Результаты. В результате исследования были выявлены статистически значимые различия в длине теломер, в уровнях ОЭ генов RAR1 и TIN2 между пациентами с диагнозом МДС и вторичным ОМЛ и здоровыми лицами. Так для здоровых лиц медиана длины теломер составила 5,8 кб. (1,5-7,9), ОЭ TRF1 – 209,5% (173,25-293), RAR1 – 297% (258,25-437,25) и TIN2 – 140,5% (92,75-158). У пациентов с МДС/ОМЛ медиана длины теломер составила 1,25 кб. (0,8-3,2), TRF1 – 162,44% (125-207), RAR1 – 179% (117-398) и TIN2 – 80% (66-114). При этом уровень ОЭ генов RAR1 ($r = -0,55$) и TIN2 ($r = -0,37$) значимо снижался ($p =$

0,006) на фоне увеличения количества недифференцированных бластов. Так медиана уровня ОЭ RAR1 среди пациентов с уровнем бластов менее 5% была выше (в 2,7 раза) а у пациентов с уровнем бластов более 20% данный показатель был снижен в 1,4 раза по сравнению с группой пациентов с количеством бластов 5-20%. У больных с хромосомными поломками уровень ОЭ гена TIN2 оказался значимо ниже ($p = 0,003$), чем у пациентов с нормальным кариотипом. Сходная тенденция наблюдалась и в отношении длины теломер – у пациентов с хромосомными aberrациями длина теломер была сравнительно короче ($p = 0,10$). Обращает на себя внимание снижение длин теломер у пациентов с делецией длинного плеча 5 хромосомы ($p = 0,04$) и комплексным кариотипом ($p = 0,014$).

Выводы. Полученные результаты демонстрируют значимые различия при оценке длины теломер и экспрессии ряда генов, обеспечивающих функционирование теломерного комплекса между пациентами с миелопролиферативными заболеваниями и здоровыми донорами, что, в свою очередь, можно рассматривать в качестве возможного маркера генетической нестабильности.

Н.А. Северина, Ю.В. Сидорова, И.А. Лукьянова Б.В. Бидерман, Н.В. Рисинская, Т.Н. Обухова, О.А. Глинщикова, А.Б. Судариков

АССОЦИАЦИЯ ТИПА ВСТАВКИ В ГЕНЕ NPM1 С ПРОГНОЗОМ ПРИ ОСТРОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Введение. Мутации гена NPM1 (нуклеофосмин) выявляются в 25-30% случаев при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ). Около 90% вставок представлены стандартными вставками A, B или D типа. В остальных случаях встречаются нестандартные вставки, отличающиеся нуклеотидной последовательностью и/или местом расположения. Мутации гена NPM1 считаются прогностически благоприятным фактором при отсутствии неблагоприятных предикторов, таких как мутации FLT3-ITD, TP53, ASXL1, RUNX1, DNMT3A и других, а также неблагоприятных хромосомных aberrаций. Известно, что при нестандартных вставках мутации в генах IDH1/2 и DNMT3A выявляются реже, что, возможно, может отражаться на прогнозе заболевания.

Цель. Проанализировать нуклеотидную последовательность вставок в NPM1-положительных образцах. Провести исследование частоты встречаемости мутаций в генах FLT3, DNMT3A, IDH1/2 и хромосомных aberrаций при стандартных и нестандартных вставках в NPM1. Оценить их ассоциацию с общей выживаемостью пациентов с ОМЛ.

Материалы и методы. В анализ включено 117 NPM1-положительных образцов больных ОМЛ, проходивших диагностику и лечение в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ в 2017-2023 гг. Все образцы были исследованы методом фрагментного анализа (12 экзон) гена NPM1 и (14-15 экзоны) гена FLT3 на приборе Нанофор 05 (ИАП РАН, Россия). Последовательность и место вставки в NPM1 устанавливали методом секвенирования нового поколения (NGS) на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina, США). Точечные мутации в генах IDH1/2 (p.R132C/G/S, p.R140Q, p.R172K) и DNMT3A (p. R882V/I/H/C/S/L/P) исследовали методом АС-ПЦР (CFX96 Touch, Bio-Rad, США). Проведено стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ) и FISH-исследование. Для оценки частотного анализа использовали двусторонний критерий Фишера, анализ общей выживаемости (ОВ) проводили по методу Каплана-Мейера.

Результаты. Согласно результатам NGS у 96 больных были выявлены стандартные вставки в гене NPM1, и у 21 – нестандартные. Тандемная дупликация в FLT3 (FLT3-ITD) в группе со стандартными вставками выявлена у 38 из 96 (40%) больных, в группе с нестандартными вставками – у 5 из 21 (24%), $p = 0,13$. В группе со стандартными вставками исследование мутаций в DNMT3A было проведено у 74 из 96 и обнаружены у 23 (31%), мутаций в IDH1/2 – у 47 из 96 и выявлены у 21 (45%). Исследование мутаций в генах DNMT3A и IDH1/2 было проведено для 17 из 21 образцов с нестандартными вставками, и эти мутации не были выявлены ни в одном образце. Таким образом, группы достоверно различались по частоте выявления мутаций в гене DNMT3A ($p = 0,003$) и IDH1/2 ($p = 0,001$).

В анализ общей выживаемости было включено 32 из 96 пациентов со стандартными и 10 из 21 пациентов с нестандартными вставками без FLT-ITD и без неблагоприятных цитогенетических нарушений по данным СЦИ и FISH-исследования, проходящих терапию по схеме 7+3. Различий общей выживаемости в этих группах не выявлено (медиана наблюдения 36 месяцев, $p = 0,88$).

Выводы. Нестандартные вставки в гене NPM1 были выявлены у 21 больного из 96 (21%). Более высокая частота выявления может быть связана с применением NGS для оценки последовательности или с небольшой выборкой NPM1-положительных образцов.

Пациенты с нестандартными вставками не имели мутаций в генах DNMT3A и IDH1/2. При оценке общей выживаемости групп пациентов с нестандартными и стандартными вставками, нормальным кариотипом, отсутствием хромосомных aberrаций и мутаций в гене FLT3 различий не было выявлено. Наличие нестандартной вставки в гене NPM1 не оказывает выраженного положительного влияния на общую выживаемость при ОМЛ.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ В ЦЕНТРАЛЬНОМ КАЗАХСТАНЕ

Товарищество с ограниченной ответственностью «Центр Гематологии», Караганда

Введение. Во всем мире, в течение последних 28 лет, заболеваемость острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) увеличилась на 87,3%. Современные подходы к молекулярно-генетической диагностике ОМЛ остаются трудными для реализации во многих странах. Результаты мониторинга ОМЛ у взрослых в Казахстане за последние 10 лет отсутствуют. Анализ встречаемости молекулярных мутаций при ОМЛ ранее в Республике Казахстан не проводился.

Цель. Изучить особенности распределения генетических мутаций у пациентов с ОМЛ на территории Центрального Казахстана, оценить взаимосвязь выявленных мутаций с результатами лечения.

Материалы и методы. В исследование включены 104 пациента Карагандинского филиала ТОО «Центра Гематологии» (56 мужчин, 48 женщин). Медиана возраста составила 60,5 года (диапазон 19–86 лет). Анализу подвергнуты данные пациентов с ОМЛ за период с ноября 2016 по январь 2023 г. Выживаемость оценивалась методом Каплана-Майера.

Результаты. Количество пациентов, подвергнутых цитогенетическому и молекулярному исследованию, составило 68,2%. Различные аберрации выявлены у 39,4% исследуемых. Наиболее часто встречаемой молекулярно-генетической аномалией у пациентов Карагандинской области является образование химерного гена RUN1X::RUNX1T1 (25% случаев), в 24,9% случаев встречаются мутации FLT3 (TKD/ITD), сочетание аберраций встречаются в 21,4% исследованных случаях ОМЛ. Встречаемость мутаций в гене NPM1 составила 17,8% исследуемых случаев, наиболее редкой молекулярно-генетической аномалией для Центрального Казахстана является CBFb::MYH1 – 10,7%. В 2019г. стандартное цитогенетическое и молекулярно-генетическое исследование проводилось у 50% пациентов с ОМЛ, в 2020 г. – у 91,3%, в 2021г. – у 85,7%, в 2022г. – у 81,3%; основные причины неприменения цитогенетических и молекулярных методов исследований – ранняя смерть пациента, пациенты-не кандидаты на интенсивную химиотерапию, отказ пациента.

У пациентов с CBFb::MYH1 двухлетняя выживаемость составила 100%. Однако, пациенты с сочетанием CBFb::MYH1 + FLT3 имеют прогноз хуже, рубеж двухлетней выживаемости не преодолел ни один из пациентов. У исследуемых пациентов с ОМЛ с FLT3-TKD с момента постановки диагноза до смерти пациентов прошло менее 12 месяцев. Выживаемость при ОМЛ с FLT3-ITD несколько выше, чем с FLT3-TKD, двухлетний рубеж выживаемости преодолели 33% пациентов с ОМЛ с FLT3-ITD. Показатель общей выживаемости при ОМЛ с RUN1X::RUNX1T1 остается одним из высоких, 83% пациентов с RUN1X::RUNX1T1 преодолели двухлетний рубеж выживаемости. Несмотря на прогностическую благоприятность мутации в гене NPM1, общая выживаемость значительно ниже чем при изолированных RUN1X::RUNX1T1 и CBFb::MYH1, только 20% пациентов преодолели двухлетний рубеж выживаемости. При сочетании мутаций в генах NPM1 с FLT3 общая выживаемость значительно снижается, в данном исследовании, рубеж выживаемости в 12 месяцев не преодолели 100% пациентов с сочетанием мутаций NPM1 и FLT3.

Выводы. В данном исследовании показаны существующие возможности в молекулярной диагностике пациентов с ОМЛ в Казахстане на примере Карагандинского региона. Определена частота встречаемости генетических мутаций у пациентов с ОМЛ, показана взаимосвязь выявленных мутаций с выживаемостью. Использование молекулярно-генетических методов исследования при ОМЛ позволят достоверно определить группу риска и выбрать наиболее подходящую тактику терапии и тактику постремиссионных мероприятий, в том числе контроль МОБ. Необходимо обеспечить более широкий охват молекулярными методами исследования пациентов с ОМЛ по всей территории Республики Казахстан. В дальнейшем рекомендуется расширение охвата исследованием других регионов, для более точной оценки встречаемости генетических мутаций, ассоциированных с ОМЛ на территории Казахстана.

Н.Ю. Семенова¹, Н.И. Енукашвили^{1,2}, Л.А. Белик^{1,2,3}, А.В. Котова^{2,4}, Т.Л. Золина⁴, И.И. Кострома¹, С.В. Грицаев¹, С.С. Бессмельцев¹, С.В. Сидоркевич¹, И.С. Мартынкевич¹

ОСОБЕННОСТИ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

¹ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА РФ, Санкт-Петербург

²СЗГМУ им. И.И. Мечникова Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург,

³ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

⁴ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург

Введение. Выживанию опухолевых клеток множественной миеломы (ММ), их пролиферативной активности и способности уклоняться от атак иммунных клеток и противоопухолевой терапии способствуют взаимодействия с элементами гемопетической ниши костного мозга (КМ), которые при раке формируют микроокружение опухоли. Мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются основным компонентом здоровой гемопетической ниши, они регулируют обновление стромы КМ и дифференцировку ГСК. По литературным данным с использованием новых методов генетического анализа, включая NGS, были обнаружены мутации в МСК КМ, но их значение для развития заболевания пока что достоверно не определено. Мутации, связанные с генами, включенными в сигнальные пути, особенно

интересны как возможные мишени для терапевтического воздействия.

В нормальном микроокружении КМ важную роль в регуляции клеточных взаимодействий играют сигнальные пути WNT: канонический (β -катенин-опосредованный) и неканонические (независимые от β -катенина). При ММ нарушения WNT-сигнализации могут играть двойную роль: поддерживать жизнедеятельность клеток опухоли и, напротив, противодействовать ММ благодаря участию в остеогенезе. На сегодня доказано участие только некоторых гликопротеинов семейства WNT в развитии ММ. На данный момент пути активации каскада WNT при развитии ММ ещё не до конца выявлены и не идентифицированы конкретные генные мутации, активирующие WNT

при этом заболевании.

Цель. Сравнение уровня транскрипции генов семейства WNT в МСК гемопоэтической ниши больных ММ до и после бортезомиб-содержащей терапии и здоровых доноров КМ.

Материалы и методы. В исследование были включены здоровые доноры КМ, первичные пациенты и пациенты с различным статусом ответа на терапию (бортезомиб-содержащие индукционные схемы) ($n = 14$). Уровни транскрипции генов WNT (WNT3, WNT3A, WNT5A, WNT5B, WNT7B, WNT8B, WNT10B, WNT2B, WNT9A, WNT9B) и CTNNB1 (кодирует белок β -катенин) определяли с помощью ПЦР в реальном времени, проводящейся на выделенной из МСК кДНК. Стандартные культуральные методы исследований, специфические для образцов МСК КМ.

Результаты. Из протестированных в нашем исследовании генов, кодирующих лиганды WNT, два гена (WNT2B, WNT9B) значительно отличались по своей активности в группах пациентов. Ген WNT2B не был активирован в группе не отвечающих на лечение, в то время как среди первичных больных и больных с полным или частичным ответом уровень мРНК повышен в 9,91-

7054,78 раз по сравнению со здоровыми донорами КМ ($p < 0,05$). Учитывая, что изоформы этого лиганда вовлечены в процессы дифференцировки и поляризации макрофагов, возможно, что его высокий уровень связан с противоопухолевым ответом. Ген WNT9B (ранее WNT15), напротив, был более активен у пациентов, не отвечающих на лечение: уровень мРНК WNT9B был повышен в 4,7-189,0 раз по сравнению с пациентами, ответившими на терапию и здоровыми донорами ($p < 0,05$). Для гена CTNNB1, кодирующего β -катенин, мы выявили достоверное повышение уровня транскрипции в группе пациентов, отвечающих на терапию ($p < 0,05$).

Выводы. Наблюдавшиеся различия между разными группами пациентов по сравнению с контрольной группой свидетельствуют о разбалансировке каскадов WNT в МСК КМ при ММ, в том числе и после лечения. Обнаруженные различия для WNT2B, WNT9B и CTNNB1 позволяют предположить возможность их использования как прогностических молекулярных маркеров.

А.Е. Силин, Д.В. Кравченко, В.Н. Мартинков, Д.К. Новик

ЗНАЧИМОСТЬ ОСНОВНЫХ МАРКЕРОВ КЛОНАЛЬНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С ПОДОЗРЕНИЕМ НА РН-НЕГАТИВНЫЕ ХРОНИЧЕСКИЕ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель

Введение. Для основных видов Рн-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний (ХМПЗ) – истинная полицитемия, хронический идиопатический миелофиброз и эссенциальная тромбоцитемия – одним из больших критериев диагностики является наличие соматических мутаций V617F гена JAK2, DEL/INS гена CALR и W515L/W515K гена MPL. Важным моментом в понимании значимости данных маркеров клональной пролиферации являются знания об их диагностическом потенциале при обследовании пациентов с признаками ХМПЗ на уровне амбулаторно-поликлинического приема врача-гематолога.

Цель. Дать оценку индивидуальной и совокупной диагностической значимости мутаций генов JAK2, CALR и MPL у пациентов с клинико-лабораторными признаками ХМПЗ.

Материалы и методы. В группу исследования включены пациенты, проходившие обследование в ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» в период 2014-2023 гг. Критерием включения являлось наличие у пациента таких признаков ХМПЗ, как повышение уровня гемоглобина выше 165 г/л у мужчин и 160 г/л у женщин (или повышение гематокрита более 49% у мужчин и более 48% у женщин при отсутствии причин для симптоматического эритроцитоза), постоянный тромбоцитоз более 450×10^9 /л, наличие в трепанобиоптате костного мозга пролиферации мегакариоцитов с признаками атипичности без ретикулинового фиброза, сопровождающейся гиперклеточностью костного мозга, не соответствующей возрасту, гранулоцитарной пролиферацией или пролиферацией мегакариоцитов с признаками атипичности в сочетании с ретикулиновым и/или коллагеновым фиброзом, отрицательный тест на наличие транскрипта BCR::ABL t(9;22). Материалом для исследования являлись образцы ДНК, выделенные из цельной венозной крови. Мутацию V617F гена JAK2 и мутации W515L и W515K гена MPL анализировали методом ARMS-PCR. Мутации DEL (тип 1) и INS (тип 2) гена CALR анализировали методом ПЦР с использованием двух праймеров, фланкирующих 9 экзон. Детекция продуктов ПЦР осуществлялась электрофоретически в агарозном геле с окраской бромистым этидием.

Результаты. Группа исследования, которая насчитывала 1402 пациента, включала в себя 690 мужчин (средний возраст 51,4 год) и 712 женщин (средний возраст 57,1 лет).

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа соматическая мутация V617F гена JAK2 выявлена в 566 случаях, что составило $40,4 \pm 1,3\%$. У мужчин данная мутация обнаружена в $33,0 \pm 1,8\%$ случаев (228 из 690 обследованных мужчин). Несколько выше доля мутации V617F была в группе женщин – $47,5 \pm 1,9\%$ (338 случаев из 712 обследованных женщин). В общей группе ХМПЗ средний возраст пациентов с мутацией V617F составил 61,3 года, в то время как у JAK2-отрицательных пациентов средний возраст равнялся 49,5 году, среди мужчин данное соотношение составило 66,6 года и 46,8 лет, а у женщин – 61,8 года и 52,8 года соответственно.

Мутации INS и DEL гена CALR выявлены у 84 пациентов, что составило $6,0 \pm 0,6\%$ от всех проанализированных случаев. При этом у 53 пациентов присутствовала мутация DEL ($63,1 \pm 5,3\%$ от всех выявленных случаев мутаций CALR и $3,8 \pm 0,6\%$ от общей группы исследования), а в 31 случае – INS ($36,9 \pm 5,3\%$ от всех выявленных случаев мутаций и $2,2 \pm 0,4\%$ от общей группы исследования). У мужчин (690 пациентов) был выявлен 31 случай мутаций CALR, что составило $4,5 \pm 0,8\%$ в данной подгруппе, из них 21 DEL и 10 INS. Средний возраст мужчин с мутацией и без мутации был сходным и составлял 55,5 лет и 51,2 год соответственно. В подгруппе женщин (712 пациенток) обнаружены 53 случая мутаций гена CALR ($7,4 \pm 1,0\%$ в подгруппе), из них 32 представлены мутацией DEL, а 21 случай – INS. Средний возраст женщин с мутацией и без мутации был сходным – 55,4 лет и 57,3 года соответственно. В результате анализа распространенных клинически значимых мутаций гена MPL в общей группе пациентов выявлено 12 положительных случаев, что составило $0,9 \pm 0,2\%$ для общей группы пациентов. Мутации выявлены у 4 мужчин и 8 женщин. Средний возраст пациентов с мутациями MPL составил 62,7 года, а без мутаций – 54,2 года. Среди 1402 проанализированных пациентов в 661 случае мутационный статус оказался положительным, что составило $47,1 \pm 1,3\%$ от общей группы. Примечательным является случай совместного выявления INS гена CALR и мутации MPL у одной пациентки (69 лет), у которой по совокупности клинических и лабораторных данных был выставлен диагноз «Хронический идиопатический миелофиброз».

Выводы. При направлении пациентов с поликлинического приема врача-гематолога при наличии клинико-лабораторных признаков ХМПЗ для проведения молекулярно-генетического анализа можно ожидать, что более 47% случаев будет сопряжено с выявлением у пациентов какого-либо из маркеров кло-

нальной миелопролиферации в виде соматических мутаций генов JAK2 (40,4 ± 1,3%), CALR (6,0 ± 0,6%) или MPL (0,9 ± 0,2%), которые отнесены по рекомендациям ВОЗ к большим критериям диагностики ХМПЗ.

В.Е. Солдатенков, О.В. Солдатенкова, К.А. Комиссаров, В.В. Бураков, Н.Б. Салтыкова, Н.Н. Силина, О.А. Смирнова, О.Ю. Матвиенко, Т.Н. Герт, Е.В. Мотыко, А.Г. Титов

СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И НЕГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ТРОМБОФИЛИИ НА КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ ГЕМОФИЛИЧЕСКОЙ ПОЛИАРТРОПАТИИ

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

Введение. В современной литературе существуют противоречивые данные о влиянии маркеров тромбофилии (МТ) на клиническую картину гемофилии. Спорным остается вопрос, оказывают ли протромботические мутации, в частности мутация FV Leiden, протективное воздействие на течение гемофилической полиартропатии. С появлением новых методов нефакторной терапии гемофилии важно уточнить значимость тромбофилических маркеров.

Цель. Изучить частоту встречаемости генетических и негенетических МТ у пациентов с гемофилией А и В, оценить и сравнить их влияние на клиническое течение гемофилической полиартропатии.

Материалы и методы. Изучено 47 историй болезни пациентов с гемофилией А (41 пациент) и В (6 пациентов). Были проанализированы результаты лабораторных исследований на генетические МТ (мутация FV Leiden, мутация FII G20210A) и негенетические МТ (антифосфолипидные антитела (АФА), гомоцистеин, дефицит протеина С, протеина S, антитромбина). Также проанализированы результаты рентгенографической и ультразвуковой визуализации суставов. По результатам исследований выделены следующие группы пациентов: 1) пациенты с генетическими МТ (n = 4); 2) пациенты с негенетическими МТ (n = 7); 3) пациенты без МТ. В полученных группах определено среднее количество пораженных суставов, проанализирована структура тяжести поражения суставов.

Результаты.

1) Частота встречаемости гетерозиготной мутации FV Leiden (8,51%, n = 4) была выше аналогичного показателя в

средней популяции Северо-Западного региона России. Мутации FII G20210A выявлено не было.

2) Из негенетических МТ были обнаружены гипергомоцистеинемия и АФА (n = 7). Стойкого дефицита естественных антикоагулянтов выявлено не было.

3) У пациентов с генетическим МТ (мутацией FV Leiden) в сумме было поражено 22 сустава (среднее число 5,5). Большую часть поражений (54,54%) составили остеоартрозы 1 стадии. Остеоартрозов 4 стадии или состояний после тотального эндопротезирования сустава (ТЭП) не выявлено.

4) У пациентов с негенетическими МТ в сумме было поражено 43 сустава (среднее число 6,14). Большую часть поражений составили остеоартрозы 3 стадии. Определялись тяжелые формы поражения суставов: 7% – остеоартрозы 4 стадии, 2,32% – состояние после ТЭП.

5) У пациентов без МТ было выявлено 272 пораженных сустава (среднее число – 7,35). Большую часть поражений (40,81%) составили остеоартрозы 3 стадии. Определялись тяжелые формы поражения суставов: 8,82% – остеоартрозы 4 стадии, 3,68% – состояние после ТЭП.

Выводы. Выявлена более высокая частота встречаемости мутации FV Leiden у пациентов с гемофилией. Полученные данные позволяют предположить, что наличие генетических МТ, в частности мутации FV Leiden, может оказывать протективный эффект на клиническое течение гемофилической полиартропатии. Негенетические МТ обладают меньшим протективным эффектом.

Л.А. Цветкова, И.М. Бархатов, А.В. Евдокимов, О.В. Паина, Н.Е. Иванова, Ж. З. Рахманова, П.В. Кожокар, А.С. Фролова, А.А. Осипова, Е.В. Семенова, А. Д. Кулагин, Л.С. Зубаровская

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ РЕЦИДИВА ОСТРОГО ЛЕЙКОЗА ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК У ДЕТЕЙ

Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Потеря пациент-специфичного HLA-гаплотипа на поверхности бластной популяции является одним из способов «ускользания» опухоли из-под иммунного надзора донорских клеток. Данный феномен наблюдается примерно в 30% случаев рецидивов онкогематологических заболеваний после частично-несовместимой алло-ТГСК. Опубликованные исследования, касающиеся изучения роли изменения HLA-гаплотипа в развитии рецидива при ОМЛ и ОЛЛ включают, в основном, пациентов взрослого возраста или смешанные группы. У детей феномен потери гетерозиготности HLA-гаплотипа широко не изучен.

Цель исследования. Оценить прогностическое значение потери гетерозиготности HLA в развитии посттрансплантаци-

онных рецидивов у детей с острым лейкозом.

Материалы и методы. В ретроспективный анализ включено 80 пациентов (42 мальчика и 38 девочек) с морфологически подтвержденным костномозговым рецидивом заболевания после проведенной алло-ТГСК. Исследование выполняли с помощью метода STR (анализ высокополиморфных микросателлитных маркеров) по 6 маркерам, локализованным на 6 хромосоме (D6S265, D6S473, D6S277, D6S105, D6S273, D6S291).

Результаты. Потеря гетерозиготности в рецидиве наблюдалась у 18/80 пациентов (22%) с различными вариантами острых лейкозов: 8/44 пациентов с В-ОЛЛ (18%), 4/10 (40%) пациентов с Т-ОЛЛ, 6/25 (24%) пациентов с ОМЛ. Все случаи рецидивов с

потерей HLA-гаплотипа были обнаружены у пациентов после гапλο-ТГСК и развивались позднее, чем рецидивы без потери HLA-гаплотипа (медиана, 88 мес. vs 6,2 мес., $p = 0,43$). Среди пациентов, получивших гапло-ТГСК ($n = 61$) был проведен анализ факторов, влияющих на риск потери HLA-гаплотипа в рецидиве заболевания. В группе пациентов с ОМЛ ($n = 17$) – количество линий предшествующей терапии, в группе пациентов с ОЛЛ ($n=44$) – наличие острой и хронической РТПХ стали факторами, ассоциированными с повышенным риском генетической потери HLA-гаплотипа, $p = 0,008$ и $p = 0,015$, соответственно. Рецидив после повторной алло-ТГСК был у 4/5 (80%) пациентов ассоциирован с потерей HLA-гаплотипа, $p = 0,008$. Прогноз пациентов с потерей HLA-гаплотипа был крайне неблагоприятен. Общая

выживаемость от момента рецидива при медиане наблюдения 6 месяцев составила 22% в группе с потерей HLA-гаплотипа и 37% в группе без потери HLA-гаплотипа. Медиана общей выживаемости – 4,5 (95%ДИ 3-NA) и 10,3 (95% ДИ 5.7-16.1) соответственно, $p = 0,063$. Наилучшую выживаемость среди пациентов с потерей гаплотипа имели пациенты, прошедшие повторную алло-ТГСК со сменой донора.

Выводы. Потеря HLA-гаплотипа в педиатрической когорте пациентов с острыми лейкозами имеет большое значение для определения прогноза и дальнейшей терапевтической стратегии при рецидиве заболевания, что требует введения данного тестирования в стандартное обследование пациентов после частично несовместимой алло-ТГСК.

А.А. Шалёва^{1,2}, Т.Н. Субботина^{1,2}, А.И. Гаранджук³

ОДНОНУКЛЕОТИДНАЯ ДЕЛЕЦИЯ В ГЕНЕ NPM1 У ПАЦИЕНТКИ С ДИАГНОЗОМ ОСТРЫЙ МИЕЛОИДНЫЙ ЛЕЙКОЗ

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск

²Федеральный Сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства России», Красноярск

³Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Краевая клиническая больница», Красноярск

Введение. Среди пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) в 25-30% случаев выявляются мутации в 12 экзоне гена NPM1, которые являются маркерами благоприятного прогноза. Наиболее распространенными мутациями NPM1 являются инсерции 4 пар оснований (п.о.), реже инсерции и делеции фрагментов, кратных 4. Для выявления и количественного анализа данных мутаций в мировой практике обычно используют фрагментный анализ, однако он имеет свои особенности, которые не позволяют достоверно детектировать наличие однонуклеотидных делеций.

Цель. Демонстрация случая выявления нестандартной соматической мутации по типу делеции 1 п.о. в гене NPM1 у пациентки с диагнозом ОМЛ.

Материалы и методы. Пациентка с диагнозом ОМЛ, впервые выявленным в декабре 2022г., проходившая в 2022-2023г. лечение в КГБУЗ «Красноярская краевая больница» г. Красноярск была дважды обследована (16 декабря 2022г. и 25 января 2023г.) на наличие мутаций FLT3 и NPM1 методом фрагментного анализа. Также образец от 25 января 2023г. был секвенирован по Сенгеру на предмет наличия мутаций в анализируемом участке гена NPM1.

Результаты. По результатам фрагментного анализа мутаций в генах FLT3 (ITD и TKD) и NPM1 в образце периферической крови от 16 декабря 2022г. (при уровне бластных клеток 77%) у пациентки выявлено не было. Спустя 40 дней, в связи с недостигнутой ремиссией после проведения 1-ого индукционного курса терапии по программе «7+3» с редуцированной дозой даунорубицина, был проведен повторный анализ вышеуказанных мутаций в новом образце периферической крови (уровень бластов составлял 34%) и дополнительно в образце костного мозга (уровень бластов 18,8%). В данных образцах от 25 января 2023г. ни в периферической крови, ни в костном мозге, так же, как и при первичном тестировании образца от 16 декабря 2022г. не было выявлено известных мутаций в генах FLT3 (ITD и TKD) и NPM1.

Особенностью фрагментного анализа является наличие на графике, отображающем результаты капиллярного электрофо-

реза, так называемого «пика заикания» перед пиком от действительно присутствующего в анализируемом образце фрагмента. «Пики заикания» имеют меньшую высоту и обычно игнорируются при анализе. В данном случае при повторном анализе графика фрагментов NPM1 было отмечено, что наивысший пик от анализируемого фрагмента приходится не на стандартный размер ампликона дикого типа – 169 п.о., а на 168 п.о., что является нехарактерным для «пиков заикания». В связи с этим было выдвинуто предположение о наличии у пациентки делеции 1 п.о. в исследуемом локусе (включающем участок 12 экзона, а также небольшой участок 11 интрона). Аллельное соотношение (AR) и уровень аллельной нагрузки (AF) в образце костного мозга от 25 января составили 1,45 и 59,14% соответственно. Проведение секвенирования по Сенгеру позволило подтвердить и идентифицировать выявленную мутацию как NG_016018.1:g.27808del (не представлена в базе COSMIC).

Что касается пациентки, то можно отметить, что, учитывая недостижение ремиссии после 1-ого курса терапии «7+3» с редуцированной дозой даунорубицина, пожилой возраст (68 лет), а также тяжесть состояния после 1-ого индукционного курса, начат 2-рой курс индукции по программе «Iza-Ida-Ara-C». В конце курса терапии у пациентки диагностирована коронавирусная инфекция, в связи с чем терапия была досрочно завершена, пациентка переведена в пульмонологическое отделение, где скончалась от коронавирусной инфекции и ее осложнений на фоне скомпрометированного статуса после курса химиотерапии.

Выводы. Выявленная нами впервые в гене NPM1 делеция 1 п.о. расположена в 11 интроне гена, и механизм ее влияния на функционирование нуклеофозмина не ясен, однако в связи с предполагаемым увеличением в динамике заболевания уровня аллельной нагрузки данной мутации, а также в связи с отсутствием иных известных мутаций FLT3 и NPM1 у пациентки, можно предположить, что мутация NG_016018.1:g.27808del может иметь патогенетическое значение при развитии ОМЛ. Также актуальны проблема ее выявления с помощью фрагментного анализа и связанный с этим вопрос о распространенности данной мутации.

МУТАЦИИ В ГЕНАХ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ (IDH1/2 И DNMT3A) У ПАЦИЕНТОВ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМ ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ: ВЛИЯНИЕ НА ПРОГНОЗ И ВЫБОР ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ТАКТИКИ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранений
Российской Федерации, Санкт-Петербург

Введение. Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) отличается выраженной генетической гетерогенностью. Мутации в генах-эпигенетических модификаторах, в частности IDH1/2 и DNMT3A, широко изучены с точки зрения вклада в патогенез заболевания, однако вопрос их независимого прогностического значения всё ещё остается открытым. Более детальный анализ данных генетических aberrаций позволит расширить текущую модель стратификации пациентов по группам риска и персонализировать терапевтический подход.

Цель. Оценить прогностическое значение мутаций в генах IDH1/2 и DNMT3A у пациентов с впервые выявленным ОМЛ и эффективность различных вариантов индукционной терапии в когорте больных с мутированным статусом этих генов.

Материалы и методы. В исследование было включено 147 пациентов (74 мужчины и 73 женщины) с впервые выявленным, критериально верифицированным согласно классификации ВОЗ-2022 диагнозом ОМЛ, медиана возраста которых составила 51 год (от 18 до 90 лет). Стратификация по группам генетического риска проводилась в соответствии с критериями ELN-2022. Мутации R132/R140 (в генах IDH1/2 соответственно) выявлялись при помощи цифровой капельной ПЦР (ddPCR), мутация R882 в гене DNMT3A – при помощи метода прямого секвенирования по Сэнгеру. Индукционная терапия стандартной интенсивности (режим «7+3») была назначена 86 пациентам, высокой интенсивности («HiDAC», «FLAG+/-Ida») – 14 пациентам, низкой интенсивности (малые дозы цитозара (МДЦ), гипометилирующий агент (ГМА), Венетоклак в комбинации с ГМА/МДЦ) – 16 пациентам. При статистической обработке данных оценивались критерий χ^2 Пирсона и показатели выживаемости, рассчитанные методом Каплан-Майера с помощью пакета программ SPSS Statistics v.26. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Общая частота определения мутации в гене DNMT3A (R882) составила 17,7% (26/147). Мутация R882 в гене DNMT3A имела кооперацию с мутированным статусом гена NPM1 (40,6% против 13%, $p = 0,002$). Мутация R140 в гене IDH2 обнаружена у 9,5% (14/147) пациентов, а мутация R132 в гене IDH1 – у 6,1% (9/147). Мутации в генах IDH1/2 были ассоциированы с более старшим возрастом (порог отсека по данным ROC-анализа – 56,5 лет с чувствительностью 70%, специфичностью 66%, AUC = 0,711), нормальным кариотипом (26,8% про-

тив 7,5%, $p = 0,009$), благоприятной группой генетического риска (30% против 12,4%, $p = 0,029$), мутациями в генах NPM1 (31,3% против 11,7%, $p = 0,015$) и DNMT3A (R882) (30,8% против 12,4%, $p = 0,02$). В общей когорте мутированный статус генов IDH1/2 улучшал показатели общей выживаемости (ОВ) пациентов (медиана не достигнута против 11,3 мес., $p = 0,015$). Мутация R882 в гене DNMT3A не определяла прогноз в общей когорте пациентов, однако снижала показатели ОВ в группе пациентов с нормальным кариотипом (медиана 11,3 мес. против 24,1 мес., $p = 0,049$). Также было отмечено снижение показателей ОВ и безрецидивной выживаемости (БРВ) у пациентов с мутацией в гене NPM1 при наличии сопутствующей мутации R882 в гене DNMT3A (медианы 24,1 мес. против 10,7 мес., $p = 0,006$ и 14,8 мес. против 5,5 мес., $p = 0,03$, соответственно). Неблагоприятное прогностическое влияние было также обнаружено в группе пациентов с мутацией FLT3-ITD в виде увеличения риска развития раннего (в течении 6 мес.) рецидива (100% против 29,4%, $p = 0,022$). Кроме того, пациенты с тройным мутационным статусом (NPM1+/FLT3-ITD/DNMT3A-882) имели худшие показатели как ОВ (медиана 10,7 мес. против 20,1 мес., $p = 0,049$), так и БРВ (медиана 5,3 мес. против 19,9 мес., $p = 0,04$) по сравнению с когортой с двумя мутациями (NPM1+/FLT3-ITD). В группе пациентов с мутированным статусом генов IDH1/2 и/или DNMT3A частота достижения полной ремиссии после первого индукционного курса была выше при использовании низкоинтенсивных схем терапии с включением Венетоклакса (83,3% против 0%, $p = 0,006$) по сравнению с другими неинтенсивными режимами.

Выводы. Положительное прогностическое влияние мутаций в генах IDH1/2 на показатели ОВ вероятнее всего связано с высокой частотой ассоциации этих мутаций с благоприятными генетическими aberrациями. Мутация R882 в гене DNMT3A отрицательно влияет на прогноз пациентов с нормальным кариотипом и мутациями в генах NPM1 и FLT3 (ITD), при этом показатели ОВ и БРВ ухудшаются при увеличении мутационного бремени и кооперации трех мутаций (NPM1+/FLT3-ITD/DNMT3A-882). Низкоинтенсивные режимы терапии с включением Венетоклакса имеют преимущество перед другими неинтенсивными схемами в группе пациентов с мутациями в генах эпигенетической регуляции и сопоставимы по эффективности со стандартной индукционной терапией.

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА: 20-ЛЕТНИЙ АНАЛИЗ ПРОГРАММЫ GIPAP В РОССИИ

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

²ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва

Введение. В России в рамках программы GIPAP в период с 2001 по 2007 год в «НМИЦ гематологии» терапия иматинибом была инициирована 235 пациентам в хронической фазе хронического миелолейкоза (ХМЛ). В настоящее время данная группа пациентов имеет наибольший период наблюдения после начала лечения иматинибом и представляет интерес с точки зрения изучения отдаленных результатов выживаемости и эффектов терапии ингибиторами тирозинкиназы (ИТК).

Цель. Изучить отдаленные результаты терапии пациентов с ХМЛ, начавших терапию иматинибом в рамках программы GIPAP в «НМИЦ гематологии» в период с 2001-2007г.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ результатов терапии 235 больных ХМЛ в хронической стадии на момент начала терапии иматинибом, получавших иматиниб в рамках программы GIPAP в период с 2001 по 2007 год в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ. Протоколы терапии и мониторинга остаточной болезни пациентов в различные временные промежутки определялись актуальными на тот момент клиническими рекомендациями в условиях реальной клинической практики и возможностями региона проживания пациента. Производилась оценка общей выживаемости и выживаемости без смены терапии иматинибом, одно- и многофакторный анализ общей выживаемости. Рассчитана кумулятивная частота достижения ответов, проведен анализ факторов, влияющих на достижение ответов, вероятность смерти от сопутствующих заболеваний и смерти от ХМЛ.

Результаты. Медиана наблюдения за живыми пациентами на момент проведения анализа составила 17,3 года (интерквартильный размах (ИКР) 15,5-18,5). Умерли 70 (30%) пациентов, медиана времени до смерти от начала терапии 7,8 лет (ИКР 3,7-13,6). Общая 10-летняя, 15-летняя и 20-летняя выживаемость составила 82%, 74% и 62%. Причиной смерти в 43 случаях (61%) явилось прогрессирование ХМЛ до фазы акселерации или бластного криза и смерть вне ремиссии по неуточненной причине, 27 (39%) больных умерли от причин, не связанных с ХМЛ. При однофакторном анализе значимое влияние на выживаемость оказывал возраст пациента на момент начала терапии иматинибом, длительность периода от диагноза до начала терапии иматинибом и группы риска Sokal и ELTS в дебюте заболевания. Многофакторный анализ показал независимое прогностическое значение для общей выживаемости возраста на момент начала терапии иматинибом, длительности периода болезни до начала лечения иматинибом и группы риска по шкале ELTS

в дебюте заболевания. Среди пациентов, умерших от прогрессирования ХМЛ, доля больных, не достигших ПЦО за весь период терапии до смерти составила 83% (35/42), в то время как среди больных, умерших от сопутствующих заболеваний, доля больных без ПЦО за весь период терапии составляет 11% ($p < 0,0001$). Медиана длительности терапии иматинибом составила 11,4 лет (0,8-21 год). Умерли в процессе терапии иматинибом 40 человек, живы и продолжают терапию иматинибом 103 пациента, 92 пациента получали как минимум один ИТК второго поколения (ИТК2), из которых живы и продолжают лечение ИТК 62 человека. Не более двух линий терапии ИТК получали 49 (21%) пациентов, три и более линии были назначены 43 (18%) больным. Медиана продолжительности терапии после переключения на ИТК2 составила 7,8 лет (0,1-15,6 лет). Общая 15-летняя выживаемость после переключения на ИТК2 составила 59%. На терапии иматинибом за весь период наблюдения ПЦО был достигнут у 171 больного (73%), еще 18 больных (8%) достигли ПЦО впервые уже после переключения на ИТК2. Большой (БМО) и глубокий молекулярный ответ (ГлМО) были достигнуты на иматинибе у 129 (56%) и 124 (53%) больных, на ИТК2 впервые достигнуты у 38 (16%) и 33 (14%) пациентов соответственно. Многофакторный анализ показал независимое прогностическое значение только периода времени от диагноза до начала лечения иматинибом для достижения молекулярных ответов на терапии ИТК

Выводы. В данном исследовании описаны результаты терапии иматинибом и другими ИТК на протяжении 20 лет с медианой наблюдения за живыми пациентами 17 лет. Спустя 20 лет наблюдения за больными на терапии ИТК мы не можем до сих пор утверждать, что выживаемость при ХМЛ сопоставима с выживаемостью условно здоровой популяции. Долгосрочный период наблюдения подтверждает тот факт, что редукция опухоли как минимум до уровня ПЦО является наиболее значимым суррогатным маркером, ассоциированным со снижением риска смерти от ХМЛ. Своевременная диагностика заболевания, быстрое начало таргетной терапии и максимально быстрая индукция цитогенетического и молекулярного ответов является важным механизмом снижения рисков резистентного течения и прогрессирования ХМЛ.

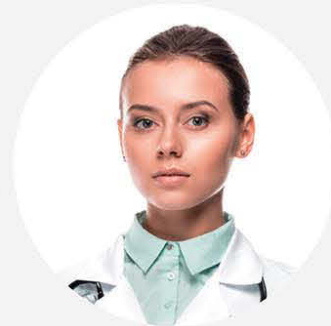
Каждый специалист время от времени сталкивается с профессиональными научно-медицинскими вопросами, на которые он не может быстро найти ответы

Ваши вопросы — наши ответы!

Экспертная поддержка в области научно-медицинских вопросов

Сервис научно-медицинской информации для специалистов здравоохранения

 myMedInfo



Используя медицинский сервис **myMedInfo**, ООО «Такеда Фармасьютикалс» предоставит специалистам здравоохранения запрашиваемую информацию для повышения качества диагностики и лечения пациентов

Задать вопрос Вы можете:



Через форму на сайте:
http://takeda.info/myMedInfo_ru или через QR-код



По телефону бесплатной горячей линии:
8 (800) 555 55 79



По электронной почте: Russia@takeda.com



Задать вопрос
через QR-код

Какие вопросы можно задать через MyMedInfo?

Вопросы, касающиеся препаратов, выпускаемых ООО «Такеда Фармасьютикалс», и следующих тем:

- нежелательная реакция на препарат;
- данные об эффективности и безопасности препарата;
- научные исследования;
- программы раннего доступа к препарату;
- диагностические программы;
- пациентские сервисы;
- доступность препарата в интересующем регионе;
- статус регистрации препарата и другие научно-медицинские вопросы, связанные с деятельностью компании.

Данный материал предназначен для специалистов здравоохранения. Сообщения о нежелательном явлении или особой ситуации на препараты компании Такеда, пожалуйста, направьте по адресу электронной почты AE.Russia@takeda.com или по телефону +74959335511.

ООО «Такеда Фармасьютикалс»
ул. Усачева, д. 2, стр. 1, 119048, г. Москва, Россия
Тел: + 7 (495) 933-55-11, Факс: +7 (495) 502-16-25
www.takeda.com/ru-ru
Дата разработки: ноябрь 2022 г.
VV-MEDMAT-77809

