



ISSN 1814-8069

18+

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

# ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ

THE BULLETIN OF HEMATOLOGY

Том XIX №3 2023

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

**ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ  
THE BULLETIN OF HEMATOLOGY**

**Том XIX      № 3      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](mailto:bloodscience@mail.ru)

Сайт: [www.bloodscience.ru](http://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 17.05.2023 г. Дата выхода 19.05.2023 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 135.

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

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

18 +

# СОДЕРЖАНИЕ

## ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

*Глазанова Т.В., Шилова Е.Р.*

ИММУННАЯ СИСТЕМА ПРИ ГЕМОБЛАСТОЗАХ .....4

## ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

*Матвиенко О.Ю., Смирнова О.А., Корсакова Н.Е., Кобылянская В.А., Головина О.Г.*

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА  
ДЛЯ ТЕЧЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ .....18

*Малова М.Д., Михайлова С.Н., Бельшева Т.С.*

ВЫСОКОДОЗНЫЙ МЕТОТРЕКСАТ В ДЕТСКОЙ ОНКОГЕМАТОЛОГИИ:  
ВОПРОСЫ ТОКСИЧНОСТИ ТЕРАПИИ .....22

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

*Бессмельцев С.С.*

ИКСАЗОМИБ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ .....28

## ГЕМАТОЛОГИЯ: ВЧЕРА, СЕГОДНЯ, ЗАВТРА

*Папаян Л.П., Головина О.Г., Матвиенко О.Ю., Силина Н.Н.*

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ТРОМБОФИЛИИ (ЛЕКЦИЯ) .....52

*Дудина Г.А., Оганнисян А.А., Мабудзаде Ч.К., Кремнева Н.В., Петрова Е.С.*

ЦИТОПЕНИЧЕСКИЙ СИНДРОМ У ВИЧ-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОВ  
(АНЕМИЯ, ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ, НЕЙТРОПЕНИЯ, МДС) (ЛЕКЦИЯ) .....63

## VIII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

«АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ИММУНОГЕНЕТИКИ В ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ  
КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ» .....76

# CONTENTS

## EDITORIAL ARTICLE

*Glazanova T.V., Shilova E.R.*

IMMUNE SYSTEM IN HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES .....4

## ORIGINAL ARTICLES

*Matvienko O.U., Smirnova O.A., Korsakova N.N., Kobilyanskaya V.A., Golovina O.G.*

THE PROGNOSTIC VALUE OF SOME HEMOSTASIS PARAMETERS FOR PREDICTING THE COURSE  
OF A NEW CORONAVIRUS INFECTION .....18

*Malova M.D., Mikhailova S.N., Belysheva T.S.*

HIGH-DOSED METHOTREXATE IN PEDIATRIC ONCOHEMATOLOGY: ISSUES OF TOXICITY OF THERAPY .....22

## LITERATURE REVIEW

*Bessmeltsev S.S.*

IXAZOMIB IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA .....28

## HEMATOLOGY: YESTERDAY, TODAY, TOMORROW

*Papayan L.P., Golovina O.G., Matvienko O.U., Silina N.N.*

HEREDITARY THROMBOPHILIA .....52

*Dudina G.A., Ohannisyann A.A., Mabudzade C.K., Kremneva N.V., Petrova E.S.*

CYTOPENIC SYNDROME IN HIV-POSITIVE PATIENTS  
(ANEMIA, THROMBOCYTOPENIA, NEUTROPENIA, MDS) .....63

Глазанова Т.В., Шилова Е.Р.

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

## ИММУННАЯ СИСТЕМА ПРИ ГЕМОБЛАСТОЗАХ

### Резюме

В представленной лекции описаны основные аспекты, характеризующие связь между состоянием иммунной системы и гемобластозами. Представлены основные методы изучения иммунологических показателей и их место в процессе диагностики как самих заболеваний, так и иммунных нарушений, возникающих в процессе терапии. Описаны механизмы ускользания злокачественно трансформированных клеток от противоопухолевой защиты. Охарактеризованы методы и задачи иммунофенотипирования при диагностике гемобластозов. Дана

характеристика изменений в иммунной системе в дебюте заболевания и на фоне лечения, представлены данные о связи состояния иммунной системы с терапией больных онкогематологическими заболеваниями. Кратко описаны аутоиммунные осложнения и особенности подходов к вакцинации у этой категории пациентов. Лекция может представить интерес для врачей-гематологов, онкогематологов, клинических ординаторов.

**Ключевые слова:** гемобластоzy, иммунная система, противоопухолевая защита, иммунофенотипирование, иммунодефицит.

Glazanova T.V., Shilova E.R.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg, Russia

## IMMUNE SYSTEM IN HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

### Abstract

The lecture describes the main aspects that characterize the relationship between the state of the immune system and hematological malignancies. The main methods for studying immune parameters and their place for diagnostics of both the diseases themselves and immune disorders that occur during therapy are presented. The mechanisms of escape of malignantly transformed cells from antitumor protection are described. The methods and aims of immunophenotyping in the diagnosis of hematological malignancies are characterized. The

characteristics of changes in the immune system at the onset of the disease and during treatment are given. Data are presented on the relationship between the state of the immune system and the therapy of patients with oncohematological diseases. Autoimmune complications and peculiarities of approach to vaccination in this category of patients are briefly described. The lecture may be of interest to hematologists, oncohematologists, clinical residents.

**Key words:** hematological malignancies, immune system, antitumor protection, immunophenotyping, immunodeficiency.

Главной функцией иммунной системы является иммунологический надзор за постоянством внутренней среды организма и элиминация чужеродных агентов как экзогенной, так и эндогенной природы. В выполнении этой задачи участвуют четыре главных компонента иммунной системы: фагоцитоз, система комплемента, гуморальный и клеточный иммунитет. Все эти компоненты выполняют свои функции в тесном взаимодействии друг с другом, и реализуется это взаимодействие посредством специальных иммунорегуляторных механизмов. Иммунный ответ осуществляется как путем непосредственного контакта между клетками, в нем участвующими, так и гуморальным путем.

Нарушения иммунитета, во-первых, проявляются в развитии иммунодефицитных состояний, которые бывают первичными (генетически детерминированными) и приобретенными или вторичными (например, СПИД). Под вторичными иммунодефи-

цитами подразумевают такие иммунные нарушения, которые развиваются через определенный срок после рождения и их возникновение связано с воздействием на организм какого-либо повреждающего фактора. Вторичные иммунодефициты могут развиваться как у детей, так и у взрослых и быть следствием нарушения факторов естественной резистентности или специфических звеньев иммунитета. Эти нарушения проявляются в развитии острых и хронических инфекционных процессов, вызываемых различными возбудителями.

Во-вторых, проявлением нарушений в иммунной системе являются различные аутоиммунные заболевания, связанные с отменой иммунологической толерантности и нарушением распознавания «своего» и «чужого».

Попадание в организм антигена вызывает по крайней мере два вида иммунного ответа: клеточный и гуморальный. Под клеточным иммуни-

тетом подразумевают способность субпопуляции Т-хелперов распознавать специфический антиген, представленный на антиген-презентирующих клетках, и реагировать на него синтезом целого каскада цитокинов, что ведет к образованию антиген-специфических эффекторных клеток. Цитокины являются регуляторами многочисленных функций лимфоцитов и других клеток иммунной и кроветворной системы. В основе механизма их действия лежит свойство вызывать дифференцировку, пролиферацию или гибель клеток. В процессе иммунного ответа цитокины начинают продуцироваться клетками только в результате антигенной стимуляции.

Под гуморальным иммунитетом подразумевают синтез специфических иммуноглобулинов – антител – В-лимфоцитами в результате их активации находящимися на антиген-презентирующих клетках антигенами, а также цитокинами, продуцируемыми Т-лимфоцитами.

Т-лимфоцит является центральным элементом, определяющим характер иммунного ответа, его интенсивность и продолжительность. Поэтому количественное определение Т-лимфоцитов и их популяций, идентификация продуцируемых ими цитокинов и выявление способности осуществлять эффекторные функции лежат в основе изучения клеточного иммунитета.

Необходимо подчеркнуть, что как Т-, так и В-лимфоциты, наряду с клетками кроветворной системы, начинают свой путь развития в костном мозге из стволовых кроветворных клеток и иммунная система исходно тесно связана с системой кроветворения.

В отличие от солидных опухолей гемобластозы являются системными заболеваниями, происходящими из клеток гемопоэтической ткани со всеми присущими этим клеткам свойствами. Лейкозные клетки, так же, как и нормальные лимфоциты, легко поступают в кровеносное русло, способны циркулировать в крови и заселять любые участки организма человека. По этим причинам многообразны объекты иммунологического, а также морфологического исследования при диагностике гемобластозов. Объектами иммунологического исследования являются как клеточные суспензии (кровь, костный мозг, цереброспинальная жидкость, экссудаты в серозных полостях), так и биопсийный материал опухолевой ткани. В ряде случаев (особенно при острых лейкозах и хроническом лимфолейкозе/лимфоме из малых лимфоцитов) именно клетки крови или костного мозга являются наиболее доступным объектом для иммунологического исследования.

В основе классификации злокачественных заболеваний системы крови лежат представления о стадиях дифференцировки миелоидных и лимфоидных клеток. В большинстве случаев опухолевые клетки являются аналогами нормальных клеток, то есть, экспрессируют те же антигены, которые появляются на мембране или в цитоплазме клеток в процессе

их дифференцировки на разных этапах созревания. Сходство между лейкозными и нормальными клетками позволяет установить линейность и стадию созревания патологических клеток, что необходимо для классификации, диагноза и прогностической оценки различных онкогематологических заболеваний.

### Основные иммунологические методы

**Имунофенотипирование** – один из иммунологических методов дифференциации клеток периферической крови, костного мозга, лимфатических узлов и других органов и тканей – получило широкое распространение в гематологии. Метод основан на реакции «антиген–антитело», в результате которой по наличию определенного набора клеточных маркеров –кластеров дифференцировки (cluster of differentiation, CD) на поверхности или внутри клетки определяют вид и функциональное состояние клетки. Метод иммунофенотипирования включает проточную флуориметрию и иммуногистохимию.

Метод иммуногистохимии используют для фенотипирования клеток в гистологических препаратах. Оценка иммунологического фенотипа как нормальных, так и опухолевых клеток периферической крови и костного мозга наиболее часто проводится при помощи лазерной проточной цитофлуориметрии. Ее несомненными достоинствами являются следующие: возможность исследования большого количества клеток (несколько сотен или даже тысяч клеток в секунду); возможность их сортировки, одновременное исследование экспрессии на одной клетке нескольких антигенных структур, что для клинической иммунологии подразумевает возможность определения различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток, а для онкогематологии – выделение различных подвариантов трансформированных клеток в пределах одной популяции; анализ различных этапов апоптоза, изучение синтеза внутриклеточных цитокинов и ряд других.

В основе проточной цитофлуориметрии лежит проведение фотометрических и флуоресцентных измерений отдельных клеток, пересекающих одна за другой вместе с потоком жидкости лазерный луч монохроматического цвета. Фотометрические каналы используются для оценки размеров клеток и внутриклеточных структур. Частицы, отличающиеся по размерам, по-разному рассеивают свет, при этом характер светорассеяния зависит от соотношения длины волны света и диаметра частиц. Существует два вида светорассеяния: прямое и боковое, при их одновременной регистрации можно выделить все клеточные популяции лейкоцитов (рис. 1). В этом случае удается определить физические свойства любой неокрашенной клетки (например, ее гранулярность и размеры) и, таким образом, разделить анализируемую популяцию клеток на отдельные субпопуляции (например, лейкоциты периферической крови на лимфоциты, моноциты и гранулоциты) (рис. 2).

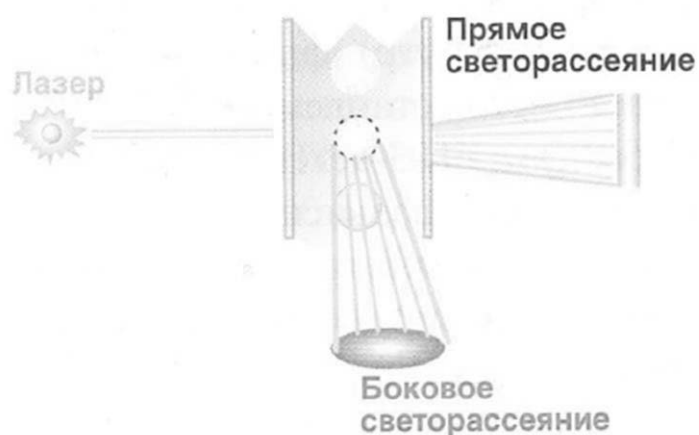


Рисунок 1 – Схема каналов светорассеяния (по [1])

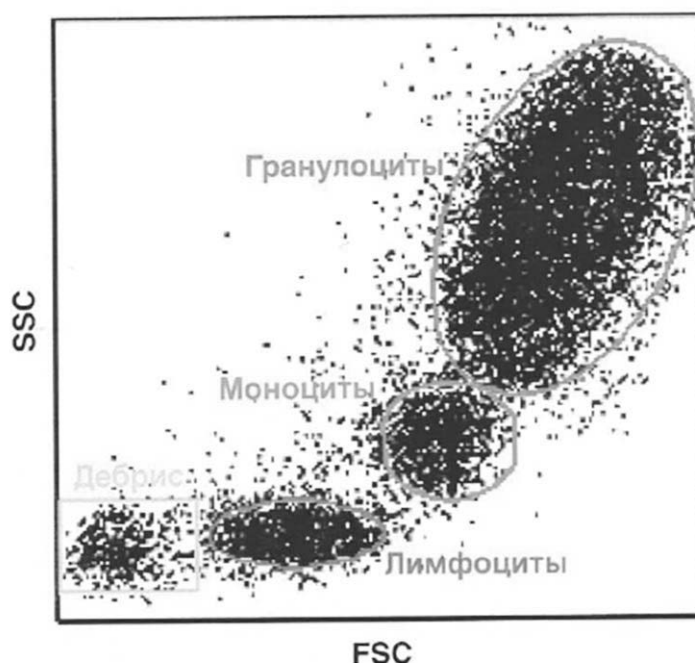
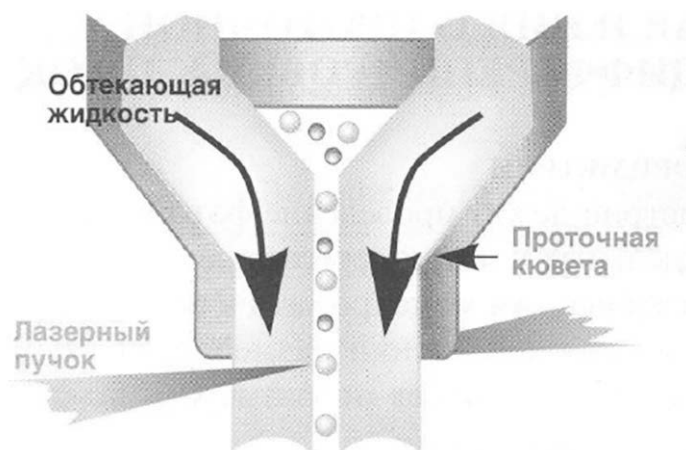


Рисунок 2 – Разделение лейкоцитов на три популяции по каналам светорассеяния (по [1])

Для изучения экспрессии клеточных маркеров применяется флуоресцентный канал. При этом используют моноклональные антитела к разнообразным мембранным и внутриклеточным компонентам клеток, меченные различными флуорохромами. После окрашивания клеток моноклональными антителами происходит их специфическое связывание с клеточными структурами с последующей регистрацией флуоресценции, индуцированной излучением лазера. Принцип метода состоит в том,

что суспензия предварительно окрашенных флуоресцентными красителями клеток помещается в контейнер для проб проточного цитометра. Через наконечник специальной конструкции под давлением клеточная суспензия впрыскивается в центр быстро движущегося потока жидкости. Клетки, попавшие в этот поток, выстраиваются друг за другом, образуя «цепочку» (принцип гидродинамического фокусирования (рис. 3)), при этом суспензия клеток не перемешивается с обжимающей ее жидкостью.



**Рисунок 3** – Принцип гидродинамического фокусирования (по [1])

Измерения происходят в проточной кювете прибора при пересечении клеткой луча аргонового лазера, охлаждаемого воздухом (длина волны 488 нм), где молекулы флуоресцентных красителей, связанные с клетками, переходят в возбужденное состояние. Возвращаясь вскоре в исходное состояние, молекулы испускают кванты света с иными длинами волн. Это вторичное излучение, имеющее строго определенную для каждого флуорохрома длину волны, проходя через оптическую систему прибора, регистрируется фотоэлектронными умножителями, преобразующими его в электрические сигналы, поддающиеся компьютерной обра-

ботке. Проточные цитофлуориметры могут быть оборудованы одним, двумя или более лазерами и четырьмя или более фотоумножителями. В случае использования двух и более лазеров в исследовании могут быть включены флуорохромы, возбуждаемые на разных длинах волн (488 нм, 635 нм, 407 нм и др.). При выборе сочетаний флуорохромов для одновременного определения нескольких клеточных маркеров следует учитывать длину волны источника света и способность оптической системы прибора разделять и одновременно регистрировать сигналы от используемых флуорохромов (таблица 1).

**Таблица 1**

**Флуорохромы, наиболее часто используемые в проточной цитометрии (по [1])**

Длина волны используемого источника лазера	Флуорохром	Длина волны эмиссии
488 нм	FITC	520 нм
	Alexa Fluor	519 нм
	PE (RPE, RDI)	576 нм
	PE-Texas Red (PE-TR, ECD)	615 нм
	Texas Red	615 нм
	PE-Cy5	670 нм
	PE-Cy7	767 нм
	PerCP	675 нм
	PerCP -Cy5.5	694 нм
635 нм или 633 нм	APC	660 нм
	APC-Cy7	767 нм
	Alexa Fluor 647	668 нм



Использование многоцветного проточного цитофлуориметра позволяет одновременно получить информацию о нескольких антигенах на поверхности и/или внутри клеток. Проточные цитофлуориметры выпускаются несколькими компаниями, соответ-

ственно, сочетание возможных для использования флуорохромов может несколько варьировать.

В таблице 2 представлены усредненные показатели клеточного иммунитета, определяемые в норме у взрослых людей.

Таблица 2

**Показатели клеточного иммунитета у здоровых взрослых (усредненные данные, взятые из нескольких источников)**

Параметр	Биологический референтный интервал, %	Биологический референтный интервал, $\times 10^9/\text{л}$
Т-лимфоциты – CD3+CD19-	61–80	1,0–2,0
Т-хелперы – CD3+CD4+	34–50	0,59–1,31
Цитотоксические Т-лимфоциты – CD3+CD8+	19–33	0,37–1,1
В-лимфоциты – CD19+	10–19	0,12–0,36
НК-клетки – CD16+CD3-	61–80	0,11–0,41

Из методов, необходимых для определения состояния иммунной системы у пациентов с гемобластозами, необходимо также упомянуть определение уровня иммуноглобулинов, что важно при диагностике и клиническом мониторинге иммунодефицитов, моноклональных гаммапатий, аутоиммунных заболеваний и других патологических состояний. Для определения уровня иммуноглобулинов в биологических жидкостях, включая сыворотку крови, мочу, слюну и проч., в настоящее время наиболее часто применяется метод **турбидиметрии и нефелометрии**. В основе данных методов лежит формирование комплекса антиген-антитело в растворе: растворы антигена и антитела смешиваются, при этом реактив используется в очень малых количествах, а формирование агрега-

тов происходит быстро. Турбидиметрия измеряет количество непреломленного света, прошедшего через раствор. Фотосенсор расположен на прямой линии с источником света, абсолютно прозрачный раствор пропускает до 100% света, чем выше концентрация частиц, тем меньше проходит света. Нефелометрия измеряет количество рассеянного под прямым углом по отношению к лучу света, фотосенсор расположен под углом 90° к источнику освещения, абсолютно прозрачный раствор не преломляет свет. Метод нефелометрии с наибольшей чувствительностью выявляет малые концентрации исследуемых веществ.

В таблице 3 представлены уровни основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови здоровых людей.

Таблица 3

**Уровни основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови здоровых людей (собственные данные)**

Параметры	IgG (г/л)	IgA (г/л)	IgM (г/л)
Среднее значение	12,3	2,1	1,45
Границы колебаний	8,8 – 19,7	0,9 – 3,9	0,5 – 2,0

Определение растворимых циркулирующих иммунных комплексов необходимо проводить при появлении подозрения на аутоиммунное расстройство. Экзогенные или эндогенные антигены могут образовывать в организме иммунные комплексы с соответствующими антителами. Этот процесс может стать причиной системной или органной патологии. Судьба циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) зависит от их величины и от индивидуальной активности фагоцитарной системы. Антитела в составе иммунных комплексов могут включать каскад активации комплемента, кроме того, IgG- и

IgM-антитела могут оказывать влияние на функцию клеток, связываясь с их Fc-рецепторами. Во многих работах описано повышение концентрации ЦИК при системных, аутоиммунных и инфекционных заболеваниях (лепра, шистозоматоз), а также при злокачественных новообразованиях. Величина и состав иммунных комплексов зависит как от свойств антигена, так и от свойств антител, и в то же время, от их абсолютной и относительной концентрации. Соотношение антиген/антитело в составе ЦИК зависит от относительных концентраций обоих компонентов. В ряде случаев в составе ЦИК находили ДНК,

инсулин, иммуноглобулин G и антигены вирусов гепатита. Специфические антигены можно обнаружить только в случае довольно ограниченного числа заболеваний. Принято считать, что ЦИК, возникающие в условиях небольшого избытка антигена, представляют наибольшую опасность ввиду длительности их циркуляции и высокой комплементактивирующей способности.

Наиболее распространенным методом выявления ЦИК является **метод их осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ)**. Он основан на различной растворимости мономеров иммуноглобулинов в составе ЦИК при наличии в среде ПЭГ-6000. Результаты выражают в условных единицах (усл. ед.).

**Общие принципы интерпретации иммунограммы.** Полноценный клинический анализ иммунограммы может быть проведен лишь в комплексе с оценкой клинической картины заболевания у данного пациента и данных его анамнеза. Реальную информацию об изменениях иммунограммы дают значительные нарушения показателей иммунограммы (на 20–40% от нормы и более). В связи с лабильностью показателей иммунограммы их незначительные колебания возможны у совершенно здоровых лиц. Анализ иммунограммы в динамике (особенно в сопоставлении с клинической динамикой) более информативен с точки зрения как диагностики, так и прогноза течения заболевания, помогает избежать ошибочного трактования.

**Необходимость исследования иммунологических характеристик при гемобластозах** следует рассматривать в нескольких аспектах. Во-первых, не до конца остается решенным вопрос о том, что является первоначальным событием: изменения в иммунной системе, дающие возможность возникновению и пролиферации опухолевых клеток или развитие опухолевого процесса, что приводит к супрессии и/или активации ряда звеньев иммунной системы. Следует отметить, что на **возникновение и прогрессирование опухолевого заболевания** несомненно, оказывают влияние особенности индивидуального иммунного реагирования. При этом важно отметить, что в процессе развития клинических манифестаций гемобластозов иммунная система закономерно страдает, что проявляется в соответствующей клинической симптоматике, характерной для каждой из нозологий.

Во-вторых, как уже указывалось выше, иммунологические исследования необходимы **для диагностики развившегося злокачественного заболевания** системы крови – острых лейкозов лимфоидной и миелоидной природы, а также лимфопролиферативных заболеваний.

Кроме того, как в дебюте заболевания, так и в процессе терапии гемобластозов важно **определять состояние иммунной системы**, так как высока вероятность возникновения иммунодефицита либо

аутоиммунного состояния, что не может не отразиться на тактике ведения таких пациентов.

Отдельной задачей иммунологических исследований является **определение минимальной остаточной болезни (МОБ)**. Также в процессе подготовки к **трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК)** необходимо определять их количество в заготавливаемом продукте – определение клеток с фенотипом CD34+.

Отдельным аспектом вовлеченности иммунной системы при заболеваниях системы крови является также **иммунотерапия**. Это связано с появлением препаратов на основе моноклональных антител к определенным антигенам на поверхности злокачественных клеток, применение которых приводит к характерным изменениям иммунологических показателей пациентов, в зависимости от того, на какой виду клеток избирательно действует препарат. Необходимо отметить, что применение в клинической практике **терапевтических моноклональных антител** требует предварительной оценки степени экспрессии таргетных антигенов на мембранах опухолевых клеток, в частности, CD20 при использовании мабтеры, CD52 при использовании Кэмпас, CD38 при использовании даратумумаба.

Кроме того, разработаны и применяются **препараты класса ингибиторов иммунных контрольных точек**, направленные на блокаду цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного белка 4 (CTLA-4) и белка запрограммированной клеточной смерти 1 (PD-1) или его лиганда PD-L1, которые демонстрируют высокий потенциал противоопухолевой активности при множестве онкологических заболеваний.

### Ускользание от противоопухолевой защиты

В организме человека постоянно происходит процесс образования злокачественных клеток, однако в норме иммунная система их своевременно распознает и уничтожает. Согласно концепции иммунного надзора, существует три его фазы, названные фазами элиминации, равновесия и выхода (ускользания) из-под надзора. В фазе элиминации иммунная система обнаруживает и уничтожает опухолевые клетки, развивающиеся в результате нарушения в работе клеточных механизмов апоптоза и пролиферации. Эта фаза элиминации может быть полной, сопровождающаяся уничтожением всех опухолевых клеток, или частичной, когда уничтожена только их часть. В таком случае наступает временная фаза равновесия между иммунной системой и развивающейся опухолью. При этом считается, что опухолевые клетки либо остаются бездействующими, либо продолжают развиваться, накапливая дальнейшие изменения (такие как мутации ДНК или изменения в экспрессии генов), которые могут модулировать опухолеспецифические антигены и индуцированные стрессом антигены. Во время этого процесса иммунная система

может избирательно уничтожать чувствительные клоны опухолевых клеток, сдерживая тем самым опухолевый рост. Однако если опухолевый клон не полностью устраняется, это приводит к выходу из-под иммунологического надзора. На этом этапе иммунная система больше не может сдерживать рост опухолевого клона, который, напротив, подавляет ее активность посредством различных механизмов. Было показано, что отсутствие иммуногенности опухолевых клеток может быть результатом неспособности иммунной системы к активации.

Одним из важнейших компонентов противоопухолевой защиты при новообразованиях, в том числе злокачественных заболеваниях системы крови, является эффекторное звено клеточного иммунитета, к которому относятся **НК-клетки**, или натуральные киллеры, цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) и NKT-клетки. НК-клетки представляют собой первую линию защиты человека против опухоли. Они являются важной частью врожденного иммунитета и представляют собой большие гранулярные лимфоциты. Одной из наиболее значимых их функций является способность распознавать и уничтожать опухолевые клетки, постоянно образующиеся в организме, при этом регулируя активность адаптивного звена иммунитета путем секреции цитокинов, что и делает их первой линией противоопухолевой защиты человека. Отличительной характеристикой НК-лимфоцитов является их способность к активации без предварительной антигенной стимуляции.

Мишенями НК-клеток являются клетки, утратившие частично или полностью молекулы Главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex, MHC-I), и экспрессирующие повышенное количество белков клеточного стресса, вызванное инфицированием вирусом или опухолевой трансформацией. Злокачественные или инфицированные клетки уходят от распознавания Т-лимфоцитами путем снижения количества MHC-I на мембране, что отменяет ингибирование НК-клеток и ведет к активации рецепторов для осуществления или цитотоксического эффекта.

НК-клетки экспрессируют антигены CD16 и/или CD56 при отсутствии линейных маркеров Т-и В-клеток (CD3 и CD19).

Необходимо отметить, что важную роль играет баланс между содержанием популяций Т- и НК-лимфоцитов. Установлена способность НК-клеток регулировать количество антиген-специфических Т-лимфоцитов при различных вирусных и онкологических заболеваниях. Так, было показано, что при уменьшении количества НК-лимфоцитов резко возрастает количество антиген-специфических Т-лимфоцитов. В процессе иммунного ответа эта особенность может оказывать как негативное, так и положительное воздействие. При низких дозах вирусной нагрузки сниженное количество Т-клеток

являлось губительным для организма из-за низкой способности к элиминации вируса. При более высокой вирусной нагрузке Т-клетки вызвали иммунопатологические реакции вследствие гиперактивности иммунного ответа, а НК-клетки уменьшали эти иммунопатологические эффекты. Такие регуляторные свойства НК-клеток могут иметь определяющее значение для осуществления противоопухолевой функции Т-клетками. Фактически, НК-клетки могут препятствовать иммунному ответу на опухоли путем прямого уменьшения количества Т-клеток.

Цитокины, секретируемые НК-клетками, относятся, в основном, к провоспалительному ряду (ФНО $\alpha$ , ИФН-гамма). В то же время некоторые НК-клетки способны синтезировать ИЛ-10, подавляющий иммунный ответ.

**Т-лимфоциты** являются ключевым звеном адаптивного иммунитета. Их развитие и созревание включают в себя сложное разнообразие взаимодействий с нелимфоидными клетками и рецепторами. Т-клеточные предшественники возникают в костном мозге и через ряд определенных и скоординированных этапов развития, мигрируют в тимус, подвергаются дифференцировке и селекции, и, в конечном счете, созревают в функциональные Т-клетки, что и определило их название (тимусзависимые, или Т-лимфоциты). Обладающие высокой специфичностью действия в отношении определенных бактериальных и вирусных инфекций, Т-клетки также опосредуют реакции на чужеродные ткани и осуществляют иммунный надзор за опухолевыми клетками, что представляет большой интерес для онкологов и гематологов.

Для Т-лимфоцитов характерно распознавание комплекса антигенов с молекулами MHC и участие в реализации иммунного ответа в качестве эффекторных и регуляторных клеток. Т-лимфоциты от других популяций, их дифференцируют по экспрессии на их поверхности маркерных молекул. Характерным и специфичным для всех разновидностей Т-лимфоцитов является молекулярный комплекс антиген-распознающего димера Т-клеточного рецептора (TCR).

Существует множество механизмов, с помощью которых опухоль подавляет активность Т-лимфоцитов. Показано, что на опухолевых клетках молекула MHC-I представлена на 25-94% меньше, что позволяет ей избегать распознавания ЦТЛ. Кроме того, злокачественные клетки активно вырабатывают цитокины и хемокины, привлекающие и активирующие клетки, которые обладают ингибирующим воздействием на иммунную систему, например миелоидные супрессорные клетки (MDSC) или Т-регуляторные лимфоциты (Treg).

Т-клеточная толерантность может также быть связана с экспрессией ингибиторных регуляторных факторов (ингибиторных костимулирующих молекул, Е3 убиквитин-лигазы и транскрипцион-

ных репрессоров) и эпигенетической модуляцией. Недавние открытия новых ингибирующих костимулирующих молекул указывают на сложные механизмы, с помощью которых организм человека предотвращает чрезмерную иммунную активацию. Повышенная экспрессия этих молекул обнаружена в микроокружении опухоли, что свидетельствует об их участии в развитии иммунной толерантности и опухолевом росте.

Модуляция этих костимуляторных путей остается одним из привлекательных подходов к контролю Т-клеточной толерантности.

**Иммунологические контрольные точки** — это система ингибиторных механизмов, которые участвуют в регуляции активации иммунного ответа, модулируют его, ограничивают вызванные иммунными клетками повреждения в органах и тканях, а также препятствуют запуску аутоиммунных реакций. Один из молекулярных механизмов основан на передаче ингибирующего сигнала от рецепторов CTLA4 или PD1 на CD8+ Т-лимфоцитах, что вызывает анергию опухоль-специфических клонов. Опухоль может непосредственно инактивировать Т-лимфоциты путем передачи сигнала через взаимодействие PD-L1, представленного на клетках опухоли, и рецептора PD-1, запускающего апоптоз лимфоцита.

**НКТ-лимфоциты**, как и NK-клетки, относят к клеткам врожденного иммунитета. Они выполняют цитотоксическую функцию и служат основным источником цитокинов на первом этапе внедрения патогена. Описано, что в НКТ-лимфоцитах присутствует предварительно сформированная мРНК цитокинов, что позволяет быстро воспроизводить их при развитии инфекции и задавать направление дальнейшему адаптивному иммунному ответу. Различные дефекты в системе НКТ-клеток наблюдались у онкологических и онкогематологических больных. Их число уменьшалось у больных раком по сравнению со здоровыми донорами при ряде солидных опухолей. Кроме того, продуцирование IFN- $\gamma$  клетками НКТ было значительно снижено у пациентов с множественной миеломой. Высокое количество инфильтрирующих клеток I типа НКТ было предиктором пролонгированной общей выживаемости при колоректальном раке, а низкие уровни циркуляции клеток НКТ типа I были предиктором плохой выживаемости при плоскоклеточном раке головы и шеи. У больных с впервые выявленным ХЛЛ и с рецидивом заболевания уровень важнейших эффекторов противоопухолевого иммунного ответа — NK- и НКТ-клеток оказался значительно снижен. У пациентов с асимптоматической формой впервые выявленного заболевания содержание НКТ-клеток в периферической крови было значительно выше, а Т-лимфоцитов существенно ниже, чем у больных с симптоматической формой ХЛЛ как в периферической крови, так и в костном мозге.

В норме **цитокины** стимулируют пролиферацию, выживание, самоподдержание, дифференцировку и активацию гемопоэтических клеток. Нарушения цитокиновой сети характерны для всех видов лейкоза. Важным компонентом таких цитокинов как IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 и IL-21 является общая сигнальная субъединица гамма ( $\gamma$ -) цепи. Было доказано, что цитокины с общей субъединицей  $\gamma$ -цепи служат критическими регуляторами развития, выживания, пролиферации, дифференцировки и/или функционирования клеток как врожденной, так и адаптивной иммунной системы и участвуют в патогенезе ряда неоплазий. Они играют важную роль в поддержании нормального гемопоэза и лимфопоэза. Регулирование клеточной пролиферации, поддержания клеточного пула, дифференцировки и иммунного ответа осуществляется в результате воздействия цитокинов с общей субъединицей  $\gamma$ -цепи на сигнальный путь JAK-STAT. С другой стороны, с индуцированной этими цитокинами передачей сигнала через JAK-STAT ассоциировано развитие ряда злокачественных новообразований, включая гематологические. Основной функцией цитокинов с общей субъединицей  $\gamma$ -цепи при развитии опухолей негематологического происхождения является активация эффекторных клеток, таких как NK- и цитотоксические Т-клетки, что в итоге приводит к противоопухолевому эффекту. Так как злокачественные клетки при гематологических неоплазиях обладают фенотипом, похожим на таковые нормальные лимфоциты, предполагается, что гематологические опухолевые клетки могут активно пролиферировать в ответ на стимуляцию перечисленными цитокинами, что в итоге приводит к преобладанию злокачественно трансформированных над остаточными нормальными клетками.

При остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) наблюдается выраженное снижение содержания лимфоцитов, синтезирующих цитокины IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-2. Кроме того, отмечена отрицательная корреляция между уровнем бластных клеток в крови и количеством лимфоцитов, синтезирующих эти цитокины. При этом в дебюте ОЛЛ лимфоциты периферической крови больных обладали высокой способностью к синтезу внутриклеточных цитокинов.

Иммунорегуляция является ключевым фактором патогенеза В-клеточного ОЛЛ (В-ОЛЛ). Известно, что клетки Th17, субпопуляция Т-хелперов, участвуют в патогенезе некоторых гематологических заболеваний. Показано достоверное повышение содержания клеток Th17 и снижение Th1 в периферической крови и костном мозге пациентов с вновь диагностированным В-ОЛЛ. Кроме того, у пациентов с В-ОЛЛ наблюдалось повышение уровня цитокинов, продуцируемых Th17, включая IL-17, IL-21, IL-23, IL-1 $\beta$  и IL-6.

Существует мнение, что развитие ОЛЛ у детей может быть связано с нарушением иммунного от-

вета на различные инфекционные агенты. При этом остается неясным, может ли отличаться пренатальное развитие иммунной системы детей, у которых в последующем развивается ОЛЛ, от такового у здоровых детей. Результаты изучения ассоциации неонатального профиля цитокинов, как маркера пренатального развития иммунной системы, с последующим возникновением ОЛЛ у детей показало, что из 11 изученных цитокинов выявлялись лишь 5 (IL-4, IL-6, IL-10, IL-12 и IL-13). За исключением IL-12, уровень остальных четырех цитокинов был статистически значимо снижен по сравнению с нормальными значениями. При этом авторы считают, что пониженный неонатальный уровень IL-10, ключевого регулятора, модулирующего выраженность и продолжительность иммунного ответа и критичного для предупреждения гиперактивного воспалительного ответа на патогены, связан с последующим риском развития ОЛЛ.

На различных стадиях развития В-ХЛЛ закономерно особенностью изменения цитокинового статуса является увеличение содержания в сыворотке крови IL-4, IL-6 и IL-7, IL-10 и TNF- $\alpha$ , обладающих полипотентным локальным и системным действием. 2. Возрастание интенсивности секреции IL-4, IL-6 и IL-7, IL-10 и TNF- $\alpha$  при различной степени тяжести течения заболевания свидетельствует о важной роли указанных цитокинов в механизмах аутокринной и паракринной стимуляции пролиферативных процессов лимфоидной ткани и является одним из ведущих патогенетических факторов нарушений межклеточного взаимодействия в лимфоидной ткани в динамике развития ХЛЛ.

### **Имунофенотипирование для диагностики гемобластозов**

**Острые лейкозы.** Острые лейкозы – это опухолевые клональные заболевания кроветворной системы с первичным поражением костного мозга. Острым лейкозам свойственно нарушение механизма нормальной дифференцировки и созревания клеток, выражающееся в опухолевой трансформации и клональной пролиферации клеток-предшественников. В большинстве случаев острых лейкозов бластные клетки имеют иммунофенотип, сравнимый с нормальными гемопоэтическими клетками различных стадий дифференцировки, а бластные клетки рассматриваются как злокачественные аналоги нормальных клеток ранних стадий лимфо- и миелопоэза. По набору поверхностных и внутриклеточных антигенов можно определить линейную принадлежность, стадию дифференцировки и функциональное состояние бластной клетки.

В соответствии с функциональной значимостью выделяют следующие группы антигенов: 1. Линейно-специфические, экспрессия которых ассоциирована с линией дифференцирования клеток. Они подразделяются по направленности на миелоидные

и лимфоидные, которые, в свою очередь можно разделить на В-клеточные и Т-клеточные. 2. Дифференцировочные антигены, появляющиеся или исчезающие на различных стадиях созревания клеток, например, CD34. 3. Линейно нерестриктированные антигены, экспрессия которых не ограничена одной клеточной линией. Их можно условно разделить на ранние и активационные.

На основе линейной направленности острые лейкозы делятся на основные группы: В-лимфобластные (В-ОЛЛ), Т-лимфобластные (Т-ОЛЛ) и мелобластные (ОМЛ).

Дифференцировочные антигены могут обнаруживаться на злокачественных клетках в комбинациях, которые не выявляются в нормальном костном мозге (аберрантный фенотип). Аберрации иммунофенотипа являются отражением генетических нарушений, лежащих в основе опухолевой трансформации.

**Лимфопролиферативные заболевания.** При лимфопролиферативных заболеваниях (ЛПЗ) особенностью лимфопоэза является способность клеток к опухолевой трансформации практически на всем пути клеточной дифференцировки. Это определяет многообразие ЛПЗ. При иммунофенотипировании клеток пациентов в части случаев удается установить стадию дифференцировки, на уровне которой наступила злокачественная трансформация, но есть ряд ЛПЗ, при которых не найдены нормальные клеточные аналоги, например, волосатоклеточный и пролимфоцитарный лейкозы. При ряде В- и Т-клеточных ЛПЗ могут наблюдаться утрата типичных антигенов, появление активационных маркеров либо коэкспрессия антигенов, несвойственных данной стадии дифференцировки лимфоцитов.

Наряду с диагностической значимостью, проточная цитометрия позволяет исследовать маркеры, имеющие прогностическую ценность при некоторых ЛПЗ, например, CD38, ZAP-70 при ХЛЛ. Необходимо отметить, что применение в клинической практике терапевтических моноклональных антител требует предварительной оценки степени экспрессии целевых антигенов на мембранах опухолевых клеток, в частности, CD20 при использовании ритуксимаба, CD52 при использовании алемтузумаба, CD38 при использовании даратумумаба.

**Минимальная остаточная болезнь.** Под минимальной остаточной болезнью (МОБ) подразумевается остаточное количество опухолевых клеток, сохранившихся в организме после достижения клинико-гематологической ремиссии. МОБ является прогностически значимым показателем при онкогематологических заболеваниях, являясь основной причиной рецидивов болезни, поэтому терапия после достижения ремиссии направлена именно на уничтожение остатков лейкозного клона.

Проточная цитофлуориметрия является одним из основных и наиболее чисто используемых

методов оценки МОБ. Определение МОБ широко применяется при лечении пациентов с острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ), В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ)/лимфомой из малых лимфоцитов и другими ЛПЗ, множественной миеломой (ММ). Подходы к определению МОБ при ОМЛ несколько сложнее, однако они также активно разрабатываются.

В основе метода определения МОБ лежат иммунофенотипические отличия опухолевых клеток от нормальных кроветворных клеток. При некоторых патологиях (ОЛЛ, В-ХЛЛ, некоторые В-ЛПЗ, ММ) данные отличия весьма существенны, тогда как при ряде злокачественных заболеваний системы крови (таких как ОМЛ) проблема отличить остаточные трансформированные клетки от нормальных клеток регенерирующего кроветворения может быть достаточно сложной. Поэтому для определения МОБ принципиально важно располагать исходным иммунологическим фенотипом опухолевых клеток до терапии.

### Изменения в иммунной системе в дебюте заболевания и на фоне лечения

Ввиду того, что при опухолевых заболеваниях кроветворной ткани неизбежно злокачественным процессом затрагиваются и иммунокомпетентные клетки, сами являющиеся субстратом злокачественной трансформации при ряде форм лейкозов, изменения в иммунной системе при гемобластозах проявляются достаточно рано и носят выраженный характер. В то же время, при солидных опухолях зачастую иммунная система страдает лишь на поздних стадиях, и во многих случаях эти изменения практически не проявляются, в зависимости от формы рака.

Для лейкозов характерна опухолевая инфильтрация костного мозга и подавление нормального кроветворения, появление в крови низкодифференцированных форм, иммунодефицитные состояния, поскольку недифференцированные клетки, злокачественные в своем большинстве, не выполняют своей защитной функции. Отсюда становится понятным снижение резистентности больных к инфекции, которая и служит основной причиной гибели больных лейкозами. Кроме того, опухоль гемопоэтической ткани дает метастазы в различные органы, связанные с кроветворной и иммунной системами, наиболее часто в печень, селезенку и лимфоузлы.

Клинические проявления у пациентов с острыми лейкозами (ОЛ) неспецифичны и связаны с развитием тех или иных симптомов, обусловленных вытеснением опухолевыми клетками нормального кроветворения. У 80-85% больных ОЛ, ХЛЛ наблюдается **синдром вторичного иммунодефицита**, который является грозным, трудно купируемым осложнением, включающим пневмонию, сепсис, гнойные

процессы. В последнее время увеличились тяжелые инфекционные осложнения вирусного и грибкового генеза. Причина иммунодефицита заключается в гранулоцитопении и неполноценности клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Отсутствие зрелых лейкоцитов резко снижает активность иммунного ответа. В результате у больного могут обостряться хронические инфекции (например, пиелонефрит, герпес) или развиваться системные болезни (пневмония, грибковые заболевания и др.).

Для лейкозов характерно вовлечение таких органов, как селезенка, лимфатические узлы, печень и области, независимо от того, находится ли источник лейкоза в костном мозге или в лимфатических узлах. Обычными симптомами лейкоза являются развитие инфекции, тяжелая анемия и склонность к кровотечениям, связанным с тромбоцитопенией. Эти симптомы являются в основном результатом замещения нормальных клеток костного мозга и лимфоидной ткани нефункционирующими опухолевыми клетками.

Клинически это проявляется лихорадкой, нередко гектического типа, появляются очаги хронической инфекции разной локализации. Характерно возникновение язвенно-некротической ангины, перитонзиллярных абсцессов, некротического гингивита, стоматита, пиодермии, параректальных абсцессов, пневмонии, пиелонефрита. Генерализация инфекции с развитием сепсиса, множественных абсцессов в печени, почках, гемолитической желтухи, ДВС-синдрома часто является причиной смерти больного.

Иммунные нарушения при остром лимфобластном лейкозе проявляются частым инфицированием ран, царапин и следов от укусов. Могут развиваться различные бактериальные, вирусные и грибковые инфекции.

Известно существование иммунодефицит-ассоциированного варианта лимфомы Беркитта, когда это заболевание возникает на фоне иммунодефицитных состояний: у пациентов с ВИЧ-инфекцией, после трансплантации органов, у пациентов с первичными иммунодефицитами. Чаще всего встречается у ВИЧ-инфицированных пациентов, причем на ранних этапах развития (до снижения CD4+-клеток).

Исследования комплекса показателей в дебюте заболевания у больных ОМЛ показали, что ведущими синдромами являются анемический 40 %, инфекционный 25 %, геморрагический 16 %, гиперпластический 8 %, язвенно-некротический 4 %. В 7 % случаев заболевание было выявлено случайно в ходе различных обследований. У пациентов с ОЛЛ на первом месте стоят инфекционный и анемический синдромы – по 27 %, на втором геморрагический и гиперпластический – поровну 18 %, 10 % пришлось на случайно выявленные случаи.

При реализации программной химиотерапии (ХТ) у больных гемобластомами регистрируется вы-

сокая частота инфекционных осложнений, характер которых определяется рядом факторов, включая гранулоцитопению. Гранулоцитопения является предиктором развития инфекционных осложнений у больных ОМЛ и ОЛЛ. Корреляция длительности гранулоцитопении и частоты инфекций была выявлена у больных ОЛЛ, в то время как у больных ОМЛ частота инфекционных осложнений была высокой вне зависимости от длительности гранулоцитопении.

Кроме того, иммунный ответ организма снижается в результате снижения чувствительности гранулоцитов и моноцитов к хемотаксическим факторам, а также в результате нарушения процессов адгезии и интеграции.

При ОЛЛ значительно меняется функциональное и метаболическое состояние лимфоцитов и нейтрофильных гранулоцитов по мере прогрессирования заболевания, которое, вероятно, является ответственным не только за возникновение осложнений, но и обуславливает возникновение повторного рецидива и ухудшает прогноз заболевания в целом.

**Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ)** – опухолевое заболевание, возникающее вследствие мутаций в геноме В-лимфоцита. Основная функция В-лимфоцитов — обеспечение гуморального иммунитета. Конечная стадия развития В-лимфоцита в организме — иммуноглобулинсекретирующая плазматическая клетка. В-лимфоциты при ХЛЛ вследствие изменений в клеточном геноме не развиваются до плазматических клеток. Это ведет к резкому уменьшению в организме больного выработки иммуноглобулинов, к которым относятся все антитела. В связи с гипогаммаглобулинемией, которая постепенно углубляется по мере прогрессирования заболевания и к 7–8 годам болезни отмечается у 70% больных, при ХЛЛ имеется повышенная склонность к развитию оппортунистических инфекций, чаще всего легочных. Инфекционные осложнения при ХЛЛ могут возникнуть в любой стадии заболевания, в том числе и в начальной, но гораздо чаще они развиваются у больных с выраженными клинико-гематологическими проявлениями болезни. Проводимое лечение (операция, лучевая и химиотерапия) также усугубляет возникший иммунодефицит.

Однако механизмы возникновения дефицита антител и, следовательно, восприимчивости к инфекции при ХЛЛ являются многофакторными. Предполагается, что дефектная функция не клональных CD5-негативных В-клеток и прямое подавление CD95+ плазматических клеток костного мозга посредством CD95L/CD95 взаимодействия между плазматическими клетками и В-клетками ХЛЛ вызывает дефект В-клеток. Регуляторные нарушения Т-клеток (например снижение активности Т-хелперов или повышение активности Т-цитотоксических клеток) и дисфункциональные дендритные клетки или естественные киллеры также могут способствовать уве-

личению бремени инфекции, обусловленной гипогаммаглобулинемией при ХЛЛ и ММ.

### Терапия онкогематологических заболеваний и состояние иммунной системы

Терапия онкогематологических заболеваний часто вызывает **иммуносупрессию**, увеличивая вероятность развития клинически значимой инфекции, включая развитие септицемии, пневмоцистной пневмонии, системного аспергиллеза или кандидоза, распространенный Herpes Zoster, реактивация цитомегаловирусной инфекции. Иммуносупрессивный эффект зависит от механизма действия препарата, дозы, продолжительности лечения и стадии заболевания. Например, аналоги пурина и ингибиторы синтеза пурина угнетают синтез ДНК, снижая тем самым пролиферативную активность Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов. Использование таких препаратов у больных гемобластомами часто ассоциировано с оппортунистическими инфекциями. Известно также, что иммунодепрессанты (азатиоприн, 6-меркаптопурин и др.) тормозят пролиферацию лимфоцитов и синтез антител. Глюкокортикостероиды снижают в крови число лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и увеличивают число нейтрофилов, уменьшают интенсивность пролиферативного ответа лимфоцитов на митогены, угнетают неспецифический иммунный ответ.

Среди терапевтических возможностей последнего десятилетия, предлагаемых для больных гемобластомами, особо следует упомянуть **таргетные препараты**, в частности, те, которые имеют мишени на В-лимфоцитах. Эти терапевтические агенты либо количественно истощают В-клетки (моноклональные антитела анти-CD20, анти-CD52, анти-CD19, анти-CD22) и плазматические клетки (анти-CD38), либо ингибируют выживание В-клеток (активирующий фактор BAFF). Существует также класс биспецифических антител, в качестве примера, можно привести блинатумомаб, который активирует эндогенные Т-клетки, соединяя CD3 в комплексе Т-клеточного рецептора (ТКР) с CD19 на доброкачественных и злокачественных В-клетках. Противоопухолевая активность блинатумомаба является поликлональной по природе и не зависит от молекул человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) на клетках-мишенях.

На фоне терапии моноклональными антителами анти-CD20 возможна реактивация вирусного гепатита В, связанная с В-клеточной деплецией и, как следствие, падением титра контролирующих анти-НВs антител. Восстановление титра антител происходит спустя 6 месяцев после последнего введения моноклональных антител. Наличие гепатита не является противопоказанием к началу терапии ХЛЛ моноклональными антителами, однако это требует сопроводительной терапии противовирусными препаратами и тщательного мониторинга функций печени.

При множественной миеломе применение новых препаратов приводит к появлению инфекций, ранее не связанных с ММ, одной из которых является цитомегаловирусная инфекция. Различные субпопуляции Т-хелперных (CD4+), Т-цитотоксических / эффекторных (CD8+) клеток и естественных киллеров (NK) осуществляют контроль над ЦМВ-инфекцией. Ингибиторы протеасом, в частности, бортезомиб, нарушают пролиферацию и функциональные свойства CD8+ Т-лимфоцитов и NK-клеток. У пациентов с ММ, получающих индукционную терапию на основе бортезомиба, частота реактивации ЦМВ значительно возрастает после аутологичной трансплантации ГСК, в то время как при использовании других индукторов такая закономерность не продемонстрирована.

Даратумумаб, препарат на основе моноклонального антитела анти-CD38, истощает иммунорегуляторные клетки с фенотипом CD38+ и нарушает репертуар Т-клеток у пациентов с ММ. Поскольку нормальные плазматические клетки также экспрессируют CD38, их апоптоз в собственной пластинке слизистой оболочки кишечника увеличивает риск развития ЦМВ-энтероколита.

### Аутоиммунные нарушения

Нарушения, проявляющиеся дисбалансом субпопуляций Т-лимфоцитов, могут привести к выработке антител к нормальным клеткам крови и другим тканям хозяина. По этой причине от 10-20% больных ХЛЛ страдают такими заболеваниями как аутоиммунная гемолитическая анемия, аутоиммунная тромбоцитопения, ревматоидный артрит. Аутоиммунные осложнения возникают при хроническом лимфоцитарном лейкозе (ХЛЛ) значительно чаще, чем при других лимфопролиферативных процессах. Так, аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) развивается в процессе заболевания у 10-25% больных ХЛЛ. С. Engelfriet и соавт. в большой работе по аутоиммунной гемолитической анемии показали, что ХЛЛ является самой частой причиной ее развития, при этом заболевании частота аутоиммунного гемолиза в 2 раза выше, чем при системной красной волчанке, занимающей второе место среди заболеваний, при которых часто развивается АИГА. Положительный антиглобулиновый тест (проба Кумбса) выявляется еще чаще – у 20–35% больных. Аутоиммунные осложнения могут развиваться в любом периоде болезни. Имеются наблюдения, в которых АИГА явилась первым симптомом хронического лимфоцитарного лейкоза. Так же, как инфекции, аутоиммунные процессы чаще возникают у больных с развернутой клинико-гематологической картиной ХЛЛ. Среди больных с аутоиммунными анемиями и тромбоцитопениями у 72% больных наблюдались выраженные клинико-гематологические проявления ХЛЛ. Эти данные подтверждаются наблюдениями других исследователей. Антитела, обнаружи-

ваемые на эритроцитах при АИГА, чаще относятся к классу IgG и только у 10–15% больных – к классу IgM. При этом показано, что при обнаружении IgG прогноз значительно лучше.

Значительно реже, чем АИГА, развивается анемия, обусловленная парциальной красноклеточной аплазией (ПКА), в 1-6% случаев ХЛЛ, по данным различных исследователей. ПКА характеризуется тяжелой анемией со снижением гематокрита до 25–20%, отсутствием ретикулоцитов в крови и практически полным отсутствием эритрокариоцитов в костном мозге. Нет достаточного количества исследований, позволяющих установить причину развития ПКА при ХЛЛ. Иммунная тромбоцитопения встречается реже, чем АИГА, всего у 2-3% больных ХЛЛ, тем не менее, она может представлять большую опасность, чем АИГА, из-за возможных и действительно часто имеющих место жизненно опасных кровотечений или кровоизлияний в головной мозг, служащих причиной смерти больных.

Существуют разные гипотезы о причинах аутоиммунных конфликтов при ХЛЛ, в частности о причинах возникновения АИГА. Тот факт, что при ревматоидном артрите и других аутоиммунных заболеваниях увеличено количество CD5+ лимфоцитов, позволил высказать предположение о роли этих лимфоцитов в возникновении аутоиммунного гемолиза, тем более что они могут продуцировать аутореактивные IgM-антитела. Однако этой гипотезе противоречит поликлональный характер антиэритроцитарных антител при ХЛЛ. Описаны случаи аутоиммунного гемолиза после лечения флударабином, который подавляет преимущественно продукцию CD4+ лимфоцитов. В связи с этим ряд авторов высказывают предположение о нарушении соотношения популяций Т-лимфоцитов как о причине развития антиэритроцитарных антител при ХЛЛ. Однако хорошо известно, что в ряде случаев аутоиммунный гемолиз развивался у больных после лечения алкилирующими препаратами, не вызывающими избирательного подавления каких-либо фракций Т-лимфоцитов. Таким образом, в настоящее время нет убедительной концепции о причине столь частого развития аутоиммунного гемолиза эритроцитов при ХЛЛ. Точно так же нет каких-либо данных, позволяющих предположить причины аутоиммунной тромбоцитопении.

Редким аутоиммунным осложнением при ХЛЛ является паранеопластическая пузырчатка. Этот синдром описан в 1990 г. G. J. Anhalt и соавт., ими же впервые доказана его аутоиммунная природа. До сих пор в связи с редкостью этого осложнения публикуется практически каждое наблюдение. В клинической картине преобладающими являются поражения слизистых оболочек и кожи. Они могут быть очень сходными с поражениями кожи при истинной пузырчатке, но чаще напоминают изменения, наблюдаемые при многоформной эритеме,



пемфигоиде, плоском лишае или болезни «трансплантат против хозяина». Аутоиммунный характер поражения кожи и внутренних органов доказан обнаружением в тканях отложений, представляющих собой комплекс IgG и комплемента. Иммунологические исследования показали, что это антитела к белкам семейства плакинов. Белки этого семейства (периплакин, енвоплакин, десмоплакин, плектин, десмоглеин) обеспечивают адгезию клеток к окружающим тканям и между собой. Образование антител к этим белкам ведет к разрушению клеточной мембраны и некрозу клеток. Поскольку такие комплексы обнаружены во многих органах и тканях – почках, мочевом пузыре, мышцах – был предложен термин «паранеопластический аутоиммунный мультиорганный синдром» — ПАМС. Он более полно характеризует заболевание, однако яркая картина поражения кожи и слизистых оболочек послужила причиной сохранения прежнего названия. Паранеопластическая пузырьчатка описана при разных опухолях, наиболее часто при неходжкинских лимфомах, ХЛЛ и болезни Кастлемана, причем на ХЛЛ приходится около 30 % всех описанных случаев. Причины развития аутоиммунного конфликта неизвестны.

#### **Вакцинация у больных гемобластозами**

В связи с характерным для больных гемобластозами состоянием иммунодефицита, обусловленного как самим заболеванием, так и проводимой терапией, встает вопрос о мерах профилактики инфекционных осложнений и вакцинации. Меры профилактики могут включать в себя такие средства сопроводительной терапии, как назначение препаратов гранулоцитарных колониестимулирующих факторов при критической нейтропении, раннее назначение антибиотиков широкого спектра и противогрибковых препаратов, Бисептол для профилактики пневмоцистной пневмонии, а также строгое соблюдение режимов асептики и антисептики.

Что касается вакцинации, то для данной группы больных определены следующие подходы. Имеются данные о том, что предшествующий постинфекционный иммунитет к ветряной оспе, гриппу, гепатиту

В, а также поствакцинальный иммунитет к кори на фоне или после такой терапии может утрачиваться или ослабевать. При этом многими исследованиями убедительно показана безопасность вакцинации лиц с иммуносупрессией инактивированными вакцинами и анатоксинами.

Иммуносупрессия является противопоказанием для введения живых вакцин – вакцин от полиомиелита, кори, краснухи, паротита, туберкулеза. Вакцинация живыми вакцинами возможна после наступления ремиссии и не ранее, чем через 3 месяца после окончания иммуносупрессивной терапии. Как правило, иммуносупрессивные препараты отменяются за 1 неделю до вакцинации и на 1 неделю после прививки, стероиды – за 1 неделю до и на 2 недели после прививки.

Для больных ЛПЗ рекомендуется, при отсутствии противопоказаний, вакцинация в целях профилактики пневмококковых инфекций после установления диагноза и сезонная вакцинация для профилактики гриппа. При этом в отношении пациентов, получающих терапию моноклональными антителами к CD20, вакцинация рекомендуется после восстановления уровня В-лимфоцитов, то есть обычно через 9 месяцев после терапии.

Следует учитывать, что имеются данные о снижении эффективности вакцинации у пациентов с гемобластозами, что связано с иммунной дисрегуляцией, сниженной способностью к выработке поствакцинальных антител и их сниженной вируснейтрализующей способности (в том числе против SARS-CoV-2) при ряде гемобластозов, особенно у пациентов с моноклональными гаммапатиями. На выработку антител в результате вакцинации может дополнительно оказывать отрицательное влияние терапия ибрутинибом и антителами к CD20.

Таким образом иммунная система играет важную роль на всех этапах развития опухолевого процесса, в том числе, при онкогематологических заболеваниях, будучи исходно связана с системой кроветворения, так как иммунокомпетентные клетки начинают свой путь развития в костном мозге из стволовых кроветворных клеток наряду с клетками кроветворной системы и развиваются во тесной взаимосвязи с последними.

#### **Список литературы**

1. Луговская С.А., Почтарь М.Е., Тупицын Н.Н. Иммунофенотипирование в диагностике гемобластозов. М. – Тверь, 2005. 2005 – 168 с.
2. Ярец Ю.И. Интерпретация результатов иммунограммы (Практическое пособие для врачей). Гомель: ГУ «РНПЦРМиЭЧ», 2020 г. – 38 с.
3. Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D. The three Es of cancer immunoediting // *Annu Rev Immunol.* — 2004. — Vol.22. — P.329-60
4. Swann J., Smyth M. Immune surveillance of tumors // *J Clin Invest.* — 2007. — Vol.117. — P.1137–1146
5. Табаков Д.В. Фенотипическая гетерогенность эффекторных клеток онкологических больных: Автореф. дис. ... канд. мед. наук, М., 2019.
6. Waggoner S.N., Cornberg M., Selin L.K., Welsh R.M. Natural killer cells act as rheostats modulating antiviral T cells // *Nature.* – 2012. — Vol.481. — P. 394–8

7. Baba T, Hanagiri T, Ichiki Y, et al. Lack and restoration of sensitivity of lung cancer cells to cellular attack with special reference to expression of human leukocyte antigen class I and/or major histocompatibility complex class I chain related molecules A/B // *Cancer Sci.* – 2007. – Vol. 98. – P. 1795–1802
8. Nurieva R, Wang J, Sahoo A. T-cell tolerance in cancer // *Immunotherapy.* – 2013. – Vol. 5. – P. 513–531
9. Ключагина Ю.И., Соколова З.А., Барышникова М.А. Роль рецептора PD1 и его лигандов PDL1 и PDL2 в иммунотерапии опухолей // *Онкопедиатрия.* – 2017. – Т. 4, № 1. – С. 49-55.
10. Акинфиева О.В. Значение активности иммунорегуляторных Т-лимфоцитов и естественных киллерных клеток в противоопухолевом иммунном ответе у больных хроническим лимфолейкозом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук, СПб., 2011.
11. Tae Sik Goh, Changwan Hong. New insights of common gamma chain in hematological malignancies // *Cytokine.* – 2017. – N89. – P.179–184
12. Глазанова Т.В., Черников Р.А., Бубнова Л.Н., Шестериков А.С. Особенности иммунного статуса у больных дифференцированным раком щитовидной железы после оперативного вмешательства // *Медицинская иммунология.* 2003. – Т. 5, № 3-4. – С. 352-353
13. Царегородцева А.Д. Лейкозы и иммунодефицит // *Материалы VII Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум»* URL: /scienceforum.ru/2015/article/2015009981 (дата обращения: 20.02.2023)
14. Кузнецова Е.Ю., Михалев М.А., Соколова-Попова Т.А., и соавт. Анализ начальных проявлений острого лейкоза и его осложнений в ходе лечения у больных городского гематологического отделения г. Красноярск за период с 2010 по 2013 годы // *Современные проблемы науки и образования.* – 2014. – № 6 (сетевое издание)
15. Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н. и др. Инфекционные осложнения у больных острыми лейкозами в зависимости от длительности гранулоцитопении. *Онкогематология* 2018;13(3):55—62 DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-55-62
16. Смирнова О.В., Манчук В.Т. Особенности клеток иммунной системы при остром лимфобластном лейкозе. *Медицинская иммунология.* 2013;15(6):577-584. doi. 10.15789/1563-0625-2013-6-577-584
17. Поддубная И.В., Бабичева Л.Г. Вторичные иммунодефициты в онкогематологии. Учебное пособие. М., 2019. – 63 с.
18. Engelfriet CP, Overbeeke MA, von dem Borne AE. Autoimmune hemolytic anemia // *Semin Hematol.* – 1992. – Vol.29, N 1. – P.3-12.
19. [https://meduniver.com/Medical/gematologia/autoimmunnie\\_oslognenia\\_pri\\_xronicheskom\\_limfoleikoze.html](https://meduniver.com/Medical/gematologia/autoimmunnie_oslognenia_pri_xronicheskom_limfoleikoze.html) MedUniver
20. Зотина Е.Н., Малых О.В., Загоскина Т.П. Инфекционные осложнения у больных хроническим лимфолейкозом на фоне лечения алемтузумабом // *Фундаментальные исследования.* – 2011. – № 9-3. – С. 404-407.
21. Савченко В.Г. и др. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Москва: Практика, 2018. – 1006 с.
22. Tamariz-Amador L.E., Battaglia A., Maia C. et al. Immune biomarkers to predict SARS-CoV-2 vaccine effectiveness in patients with hematological malignancies // *Blood Cancer J.* – 2021. – Vol. 11, N 12. – 202. doi: 10.1038/s41408-021-00594-1
23. Addeo A, Shah PK, Bordry N, et al. Immunogenicity of SARSCoV-2 messenger RNA vaccines in patients with cancer // *Cancer Cell* // 2021. – Vol. 39, N 8. – P. 1091–1098.e2

Матвиенко О.Ю., Смирнова О.А., Корсакова Н.Е., Кобылянская В.А., Головина О.Г.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России»

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ДЛЯ ТЕЧЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

### Резюме

Течение COVID-19 ассоциировано с высокой смертностью в связи с быстрым развитием респираторного дистресс-синдрома, нарушений в системе гемостаза и множественной полиорганной недостаточности. В связи с этим, ранняя диагностика и оценка степени тяжести течения заболевания крайне важна для своевременного и успешного лечения COVID-19. Целью нашего исследования явилась оценка прогностической значимости ряда показателей системы гемостаза. Обследованы 104 пациента с COVID-19. В зависимости от исхода заболевания (вы-

писка из стационара или летальный исход) пациенты были поделены на две группы. В обеих группах пациентов отмечались признаки гиперкоагуляции, однако протромбиновый тест по Квику и активность антитромбина были значительно снижены, в то время как уровни D-димера и гомоцистеина – повышены в группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания. Данные показатели могут служить лабораторными маркерами неблагоприятного прогноза у пациентов с COVID-19.

**Ключевые слова:** COVID-19, гиперкоагуляция, гемостаз

Matvienko O.U., Smirnova O.A., Korsakova N.N., Kobilyanskaya V.A., Golovina O.G.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency of Russia

## THE PROGNOSTIC VALUE OF SOME HEMOSTASIS PARAMETERS FOR PREDICTING THE COURSE OF A NEW CORONAVIRUS INFECTION

### Abstract

COVID-19 demonstrates a high mortality because of rapidly progress to severe and critical cases with respiratory distress syndrome, coagulation dysfunction, multiple organ failure, etc. Therefore, early identification of the disease expansion is very important to the clinical diagnosis and treatment of COVID-19. The aim of our study was to investigate the value of some coagulation parameters. These laboratory data were collected at hospitalization in 104

patients with COVID-19. Outcomes were divided into two types: hospital discharge and death. Coagulation profiles observed in both groups of patients reflect a hypercoagulability, but prothrombin test and antithrombin were significantly lower, while D-dimer and levels homocysteine – significantly higher in patients with poor prognosis. These tests could serve as diagnostic indicators for disease outcome.

**Key words:** COVID-19, hypercoagulability, hemostasis

**Ведение.** Пандемия COVID-19, которая характеризуется быстрым распространением, высокой контагиозностью, вариабельностью клинического течения и наличием тяжелых осложнений, явилась глобальной проблемой системы здравоохранения и мирового сообщества в целом. На настоящий момент хорошо известно, что для тяжелого и средне-тяжелого течения новой коронавирусной инфекции характерно наличие прокоагулянтных нарушений в системе гемостаза, развитие респираторного дистресс-синдрома и полиорганной недостаточности [1]. У пациентов с COVID-19 отмечается высокая частота развития венозных тромбозных осложнений (ВТЭО), таких как тромбоз глубоких вен нижних конечностей (ТГВНК) и тромбоз легочной артерии (ТЭЛА), что ассоциировано с высокой смертностью [2,3,4]. С целью коррекции нарушений системы гемостаза и профилактики ВТЭО широкое распространение приобрело назна-

чение антикоагулянтных препаратов пациентам с COVID-19. В остром периоде заболевания предпочтение отдается препаратам низкомолекулярного гепарина (НМГ) [5]. Для успешного ведения пациентов с COVID-19 большое значение имеет ранняя диагностика развития осложнений, оценка степени тяжести течения заболевания, мониторинг проводимой терапии. Учитывая вышеперечисленное, оценка состояния системы гемостаза у данной категории больных представляется крайне важной для своевременного и успешного лечения COVID-19.

**Цель исследования.** Оценка прогностической значимости показателей системы гемостаза в течении COVID-19.

**Методы.** Образцы венозной крови были получены при госпитализации от 104 больных COVID-19 с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания. В группу обследованных вошли 56 мужчин и 48 женщин в возрасте от 26 до 90 лет, медиана воз-

раста составила 66 лет. В зависимости от исхода заболевания (выписка из стационара или летальный исход) пациенты были поделены на две группы. У большинства больных имело место наличие сопутствующих хронических заболеваний, таких как гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, хроническая сердечная недостаточность, ожирение, сахарный диабет 2-го типа. Критериями исключения из исследования явилось наличие онкологических заболеваний и иммунодефицитных состояний. Все пациенты получали антитромботическую профилактику препаратами НМГ в стандартной высокой профилактической дозировке. Для оценки состояния системы гемостаза пациентов определяли следующие показатели: активированное парциальное тромбoplastинное время (АПТВ), протромбиновый тест по Квику (ПТ), концентрацию фибриногена (ФГ), активность фактора VIII (ф.VIII) и антитромбина (АТ), уровень D-димера и гомоцистеина (ГЦ), ристоцетин-кофакторную активность фактора Виллебранда (ф.В), антиген ф.В.

Основные исследования проводили на коагулометре ACL Top 300 (Automated Coagulation Laboratory, Instrumentation Laboratory, США) с использованием реактивов HemosIL (Instrumentation Laboratory, США) согласно рекомендациям производителя. Определение активности ф.В проводили с помощью анализатора агрегации тромбоцитов AP 2110 (SOLAR, Белоруссия) с использованием ристоцетина (CHRONO-PAR RISTOCETIN, CHRONO-LOG Corporation, США). Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц. Для статистической обработки использовали пакет STATISTIKA 10, определяли медиану и 95%ый доверительный интервал (Me; 95% ДИ). Для сравнения показателей использовали критерий Манна-Уитни, различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** Результаты, полученные при исследовании показателей плазменного гемостаза пациентов с COVID-19 при поступлении в стационар, представлены в таблице 1.

**Таблица 1**

**Показатели гемостаза пациентов с COVID-19 (Me, 95%ый ДИ: 2,5ый и 97,5ый процентили)**

Показатель	Выздоровление (N=81)	Летальный исход (N=23)	Здоровые лица (N=30)
АПТВ, с	26,3 17,4 – 38,6	24,5 20,3 – 83,2	30,6 27,2-33,0
ПТ, %	82,8 54,0 – 120,0	66,8* 37,0 – 110,0	93,0 86,0-113,9
Фибриноген, г/л	5,1* 2,3 – 10,4	5,1* 1,4 – 11,4	2,5 1,5-4,2
ф.VIII, %	136,2* 49,3 – 307,7	130,5* 53,6 – 330,9	104 72,9-163,1
Активность ф.В, %	295,0* 120,0 – 470,0	290,0* 235,0 – 660,0	97,0 63,0 – 144,3
Антиген ф.В, %	216,2* 131,3 – 790,7	238,2* 149,9 – 1000,0	107,0 74,6-161,1
ГЦ, ммоль/л	15,6* 6,9 – 39,0	21,2** 12,1 – 31,1	Me-10,0 5,0-14,8,
АТ, %	99,2 58,5 – 136,0	87,9* 54,1 – 122,0	94,0 75,0-120,2
D-димер, нг/мл	342,0* 63,0 – 3580,0	842,0* 155,0 – 1336,0	17,0 4,65-117,4

\* -  $p < 0,05$  различия с контрольной группой

° -  $p < 0,05$  различия между группами пациентов.

Как видно из данных, представленных в таблице, у всех обследованных пациентов независимо от исхода заболевания отмечались признаки гиперкоагуляции, о чём свидетельствовало повышение концентрации ФГ, активности ф.VIII, активности и уровня фактора Виллебранда, а также – концентра-

ции D-димера, что согласуется с данными других исследований [6,7]. Значимый рост показателей, характеризующих состояние острофазных белков, таких как уровень ФГ, ф.VIII и ф.В, указывает на выраженный воспалительный ответ на развитие вирусной инфекции, что, в свою очередь, сопровождается про-

коагулянтными изменениями системы гемостаза у больных COVID-19. Необходимо отметить, что на фоне увеличения перечисленных параметров у пациентов выявлены низкие значения ПТ, что говорит об удлинении времени, необходимого для свёртывания плазмы в соответствующем тесте и, как правило, ассоциируется с гипокоагуляционной направленностью плазменного гемостаза. Наблюдения ряда авторов обнаружили такую же особенность при обследовании больных, страдающих различными инфекционными болезнями [8]. Однако вплоть до настоящего времени нет однозначного объяснения данному явлению. Предполагают, что при остром течении инфекционных заболеваний может страдать белковосинтетическая функция гепатоцитов [9]. Также рассматривают возможность развития коагулопатии потребления или появления аутоантител на фоне инфекционного процесса [10]. Существует мнение о защитной функции, которая способствует ограничению образования тромбина, предупреждая развитие тромботических осложнений [11]. Данные, полученные в настоящем исследовании, не дают возможности поддержать ту или иную точку зрения, но свидетельствуют о значимом снижении ПТ у обследованных пациентов по сравнению со здоровыми лицами. Обращает на себя внимание то, что между обеими группами больных отмечена разная степень снижения показателя ПТ. Так, в случае летального исхода показатель ПТ претерпевал наиболее выраженные изменения, что даёт основание рассматривать данный параметр в качестве прогностического признака при обследовании пациентов. О нарушении состояния системы гемостаза говорит наличие у обследованных больных эндотелиальной дисфункции, о чем свидетельствует значимое увеличение параметров, характеризующих уровень и активность фактора Виллебранда. Однако разница между двумя группами пациентов по данным показателям не была обнаружена. В то же время о состоянии сосудистой стенки возможно судить по уровню гомоцистеина, который, помимо различных негативных влияний на сосудистый эндотелий и тромбоцитарное звено гемостаза, является косвенным маркером повреждения эндотелия и может отражать наличие эндотелиальной дисфункции [12,13]. Данный показатель у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания был значимо выше, не только относительно контрольной группы, но и по сравнению с выжившими пациентами. Снижение активности антитромбина в значительной мере определяет прокоагулянтные изменения и является общепринятым фактором риска развития ВТЭО. Результаты нашего исследования показывают, что у выживших пациентов с тяжелой или среднетяжелой формой течения COVID-19 данный параметр при поступлении в стационар не отличался от нормальных значений. Однако в группе больных с неблагоприятным исходом заболевания отмечено выраженное уменьшение показателя, оце-

нивающего состоятельность данного естественного антикоагулянта, что позволяет считать его признаком, обладающим прогностической способностью при обследовании лиц с выявленной новой коронавирусной инфекцией. Важную информацию о состоянии системы гемостаза можно получить, оценивая такой показатель, как уровень D-димера, который свидетельствует как о степени активации процесса фибринолиза, так и о наличии или отсутствии тромбинемии. В настоящее время данный параметр широко используется в клинической практике для диагностики риска развития тромботических осложнений, а также при мониторинге антикоагулянтной терапии. В многочисленных работах, посвященных изучению системы гемостаза у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, исследователи обращают внимание на выраженное повышение концентрации D-димера. При этом ряд авторов рассматривает чрезмерное повышение данного показателя как предиктор неблагоприятного исхода заболевания [14]. Результаты, приведенные в таблице, полностью соответствуют подобным наблюдениям. У пациентов обеих обследованных групп отмечена концентрация D-димера, значимо превышающая контрольные параметры. Однако обращает на себя внимание выявленное отличие данного показателя не только от значений здоровых лиц, но и между выжившими и умершими пациентами. Так, у пациентов с летальным исходом отмечалось более выраженное повышение концентрации D-димера, которая значимо превышала таковую у больных, благополучно завершивших лечение.

**Выводы.** Таким образом результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что у пациентов с COVID-19 отмечаются признаки гиперкоагуляции независимо от исхода заболевания. При тяжелом и среднетяжелом течении новой коронавирусной инфекции нарушения в системе гемостаза становятся ярко выраженными, появляются разнонаправленные изменения, которые могут быть предикторами неблагоприятного исхода заболевания. Такие показатели как ПТ, активность АТ, уровни D-димера и гомоцистеина могут служить лабораторными маркерами неблагоприятного прогноза у пациентов с COVID-19.

#### **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

Окончательное одобрение рукописи: все авторы

**Список литературы**

1. Kipshidze N., Dangas G., White C. J. et al. Viral coagulopathy in patients with COVID-19: treatment and care // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2020. – Vol. 26. – P. 1-7.
2. Katneni U.K, Alexaki A., Hunt R.C. et al. Coagulopathy and Thrombosis as a Result of Severe COVID-19 Infection: A Microvascular Focus // *Thrombosis and Haemostasis.* – 2020. –Vol. 120, N 12. – P. 1668-1679.
3. Schulman S., Hu Y., Konstantinides S. Venous Thromboembolism in COVID-19. // *Thrombosis and Haemostasis.* – 2020. Vol. 120, N 12. – P. 1642-1653.
4. Пономаренко И. В., Сукманова И. А., Хорев Н. Г. и др. Тромботические синдромы у пациентки с Covid-19 молодого возраста (клинический случай) // *Бюллетень медицинской науки.* – 2022.– Т. 20, № 2. – С. 81-85.
5. Лобастов К.В., Счастливец И.В., Порембская О.Я. и др. COVID-19-ассоциированная коагулопатия: обзор современных рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике // *Амбулаторная хирургия.* – 2020. – № 3-4. – С. 36-51.
6. Матвиенко О. Ю., Головина О. Г., Кобилянская В. А. и др. Состояние системы гемостаза у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию. эффективность антикоагулянтной профилактики // *Бюллетень медицинской науки.* – 2022. – Т. 27, № 3. – С. 30-36.
7. Галстян Г.М. Коагулопатия при COVID-19 // *Пульмонология.* – 2020. – Т. 30, № 5. – С. 645-657.
8. Хмилевская С. А., Зайцев И.А., Зрячкин Н.И. и др. Особенности состояния системы гемостаза и иммунопатологические реакции при Эпштейн-Барр вирусной инфекции у детей // *Журнал инфектологии.* – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 75 – 82.
9. Петров В.И., Пономарева А.В, Ивахненко И.В. и др. Этиопатогенетические аспекты повреждения печени у пациентов с COVID-19 // *Вестник ВолгГМУ.* – 2020. – Т. 4, № 76. – С. 9-18.
10. Tang N., Li D., Wang X. et al. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia // *J. Thromb. Haemost.* – 2020, Vol 18, N 4. – P. 844 – 847.
11. Морозова Т.В. Особенности гемостаза у больных с дифтерийной токсемией: Автореферат дис. канд. мед. наук. СПб., 2007. – 21 с.
12. Gerdes L. E., Kremer H. A., Ten K.C. et al. Homocysteine and marker of coagulation and endothelial cell activation // *Thromb Haemost.* – 2004. – Vol. 2, N 3. – P. 445-451.
13. Васина Л.В., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 4-15.
14. Pryzdial E. L. G, Sutherland M. R., Lin B. H., Horwitz M. Antiviral anticoagulation // *Res. Pract. Thromb. Haemost.* – 2020. – Vol. 4, N 5. – P. 774-788.

Малова М.Д., Михайлова С.Н., Бельшева Т.С.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

## ВЫСОКОДОЗНЫЙ МЕТОТРЕКСАТ В ДЕТСКОЙ ОНКОГЕМАТОЛОГИИ: ВОПРОСЫ ТОКСИЧНОСТИ ТЕРАПИИ.

### Резюме

Метотрексат (MTX) является одним из основных препаратов, существенно повысившим показатели выживаемости больных гемобластозами. Так, результаты лечения пациентов с острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) и поздними стадиями неходжкинских лимфом (НХЛ) с применением высокодозного (1-5 г/м<sup>2</sup>) метотрексата превышают 90%. Несмотря на высокую эффективность, лечение метотрексатом сопряжено с целым рядом токсических эффектов препарата на органы и системы детского организма.

Цель исследования – провести сравнительный анализ эффектов токсичности метотрексата у детей при использовании различных протоколов лечения гемобластозов.

Данное исследование является систематическим обзором. К наиболее эффективным программам лечения лейкозов и лимфом у детей относятся протоколы, разработанные группами BFM (Берлин-Франкфурт-Мюнстер) и COALL (Германия), а

также целый ряд программ американских исследовательских групп CCSSG, POG, StJCRH. В результате анализа токсичности противоопухолевой терапии установлено, что протоколы BNHLBFM 90/95 и ALL-BFM-90 отличаются нефро- и гепатотоксичностью 3-4 степени (12,5% и 21,2% соответственно), для протокола ALL-MB 91 характерна нейротоксичность 3-4 степени (17,6%), протоколы ALL-MB 2002, ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015 характеризуются высокой гематологической 3-4 степени (64,3%) и кожной 3-4 степени (14,5%) токсичностью. Достаточно эффективным и безопасным можно признать протокол ALL IC-BFM 2002. Он обладает менее выраженной кожной токсичностью (3,2%), гепатотоксичностью (8,6%), нефротоксичностью (4,4%) 3-4 степеней. Применение высокодозного метотрексата в протоколах mM и MM не сопровождается высокой частотой тяжелых токсических явлений при проведении адекватной сопроводительной терапии.

**Ключевые слова:** гемобластозы, метотрексат, токсичность, эффективность, протоколы лечения.

Malova M.D., Mikhailova S.N., Belysheva T.S.

N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Ministry of Health of Russia

## HIGH-DOSED METHOTREXATE IN PEDIATRIC ONCOHEMATOLOGY: ISSUES OF TOXICITY OF THERAPY

### Abstract

Methotrexate (MTX) is one of the basic drugs that have significantly improved the survival rates of patients with hemoblastosis. For example, the results of treatment of patients with ALL and advanced stages of NHL with high-dosed (1-5 g/m<sup>2</sup>) methotrexate exceed 90%. Despite the high efficacy, treatment with methotrexate is associated with a range of toxic effects of the drug on organs and systems of the children's organism. The aim of the research was to conduct a comparative analysis of methotrexate toxicity effects in children using different hemoblastosis treatment protocols. This study is a systematic review. The most effective treatment programs used currently include protocols developed by the BFM group (Berlin-Frankfurt-Munster) and COALL (Germany), as well as a number of protocols of the American research groups CCSSG, POG, StJCRH. As

a result of the analysis, it was found that the protocols B-NHL BFM 90/95 and ALL-BFM-90 are characterized by high nephro- and hepatotoxicity of grade 3-4 (12.5% and 21.2% respectively), the protocol ALL-MB 91 is characterized by neurotoxicity of grade 3-4 (17.6%), protocols ALL-MB-2002; ALL-MB 2008 and ALL-MB 2015 are characterized by high hematological grade 3-4(64.3%) and skin toxicity grade 3-4 (14.5%). The ALL IC-BFM 2002 protocol can be considered sufficiently effective and safe. It has less severe skin toxicity (3.2%), hepatotoxicity (8.6%), nephrotoxicity (4.4%) of grades 3-4. The use of high-dose methotrexate in mM and MM protocols is not accompanied by a high incidence of severe toxic events with supportive therapy.

**Key words:** hemoblastoses, methotrexate, toxicity, efficacy, treatment protocols.

Введение. Метотрексат (MTX) является одним из самых широко используемых противоопухолевых препаратов, доказавших свою эффективность в отношении большого спектра онкологических заболе-

ваний у детей. Применение высоких доз MTX (>1 г/м<sup>2</sup>) в комбинации с другими химиопрепаратами на сегодняшний день является стандартом лечения таких нозологий, как острый лимфобластный лейкоз

(ОЛЛ), неходжкинские лимфомы (НХЛ), позволяя достичь многолетней выживаемости и выздоровления у более чем 90% больных детского возраста. [1,2]. Выдающиеся результаты лечения гемобластозов в детской когорте больных стали основанием для модификации схем лечения взрослых пациентов, в том числе, за счет включения высокодозного метотрексата. Адаптация протокола NHL-BFM 90 для лечения лимфомы Беркитта у взрослых позволила получить общую выживаемость у 88% больных (медиана наблюдения 16,5 мес.) [3].

Современные протоколы полихимиотерапии (ПХТ) позволяют получить выздоровление и многолетнюю общую выживаемость у 90,7 % больных острым лимфобластным лейкозом и  $85,67 \pm 11,15\%$  при некоторых вариантах неходжкинских лимфом [4]. Однако высокие показатели длительной выживаемости связаны с непосредственной и отдаленной токсичностью проводимой терапии [5]. В случаях токсических эффектов со стороны сердечно-сосудистой, пищеварительной, нервной, мочевыделительной и других систем требуется назначение антидотов и препаратов, защищающих органы и системы организма от повреждающих эффектов противоопухолевых препаратов [6;7-9]. Несмотря на разработанные рекомендации по инфузионной терапии, терапевтическому лекарственному мониторингу, использованию фолината кальция, позволяющих снизить ожидаемую токсичность метотрексата, у ряда больных предотвратить развитие осложнений не всегда представляется возможным.

Важную терапевтическую проблему представляют непосредственные побочные эффекты метотрексата, связанные с кожной, гематологической токсичностью, токсическим поражением ЦНС, других органов и систем. Биологическая природа этих видов токсичности до сих пор остается недостаточной изученной.

**Цель исследования** – провести сравнительный анализ токсичности метотрексата у детей при использовании различных протоколов лечения гемобластозов.

**Материалы и методы.** Данное исследование является систематическим обзором. Был проведен анализ научных публикаций, мета-анализ рандомизированных контролируемых исследований, анализ отчетов, научно-исследовательских материалов на предмет оценки эффектов токсичности метотрексата у детей при использовании различных протоколов лечения. Основной акцент был сделан на анализе кожной, гематологической токсичности, токсическом поражении ЦНС при лечении ОЛЛ и НХЛ.

**Результаты и обсуждение.** Метотрексат – антиметаболит группы структурных аналогов фолиевой кислоты, ингибитор дегидрофолатредуктазы, которая превращает дигидрофолиевую кислоту в тетрагидрофолиевую [10]. Назначение МТХ в высо-

кодозном режиме 1-5 г/м<sup>2</sup> имеет ряд преимуществ – преодоление механизмов опухолевой резистентности и способность прохождения через гематоэнцефалический барьер, что играет определяющую роль в лечении и профилактике поражения ЦНС при гемобластозах [11-14]. Достижение высоких концентраций МТХ в плазме крови ведет к значимому увеличению токсичности, что диктует необходимость проведения лекарственного мониторинга МТХ в плазме крови, инфузионной терапии, введения фолината кальция. Тем не менее, в литературе описаны случаи тяжелой токсичности, частота которой может достигать 10%, с уровнем смертности, достигающим до 6% [15].

В настоящее время в Российской Федерации используются международные протоколы лечения ОЛЛ: ALL IC-BFM 2002/2009 (Acute Lymphoblastic Leukemia Intercontinental Berlin-Frankfurt-Munster [BFM] 2002/2009 – программы лечения острого лимфобластного лейкоза у детей, разработанные группой BFM в 2002/2009 году) и ALL-MB-2015 (Acute Lymphoblastic Leukemia Moscow-Berlin 2015 – протокол для лечения детей с ОЛЛ, разработанный группой Москва-Берлин в 2015 году), похожие по спектру используемых препаратов и, следовательно, ожидаемому профилю токсичности [15]. У детей до 1 года применяются 2 возможные схемы терапии: Interfant (International Collaborative Treatment Protocol For Infants – Международный протокол лечения для детей до 1 года) и MLL-Baby-2006 (Myeloid-lymphoid leukemia, mixed-lineage leukemia – программа лечения MLL-позитивных ОЛЛ у детей до 1 года) [16]. Для лечения пациентов с НХЛ высокоэффективным является протокол B-NHL-BFM 95 (B-cell non-Hodgkin lymphoma Berlin-Frankfurt-Munster 1995 – протокол, используемый для лечения B-клеточных неходжкинских лимфом) [17].

Степень токсичности МТХ при применении различных протоколов лечения варьирует. Это определяется плазменными концентрациями МТХ, его дозами, схемами и режимами введения препарата, а также видами сопроводительной терапии [18].

В отдельных исследованиях показано, что варианты токсичности во многом зависят от этапа терапии [13]. Так, на этапе консолидации ремиссии при ОЛЛ чаще регистрируются гастроинтестинальная и гепатотоксичность, обусловленные применением МТХ в дозах 2 г/м<sup>2</sup> или 5 г/м<sup>2</sup> (в протоколах ALL IC-BFM 2002/2009) [13]. Выраженные проявления токсичности заставляют проводить сопроводительное лечение, направленное на коррекцию развившихся осложнений и откладывать начало очередного этапа противоопухолевого лечения, что снижает эффективность терапии [13].

Распространенным осложнением при применении протокола ALL IC-BFM 2002/2009 является гастроинтестинальная токсичность (33,6%). В желудочно-кишечном тракте МТХ абсорбируется



путем активного транспорта при помощи переносчика фолиевой кислоты и протон-сопряженного переносчика (расположены на апикальной базолатеральной мембране энтероцитов), кодируемых генами SLC19A1 и SLC46A1, а также генами ABCG2, ABCB1, ABCG2) [13]. Носитель восстановленного фолата SLC19A1 80G>A является наиболее изученным полиморфизмом в гене SLC19A1 (= RFC1). Аллель А, вероятно, приводит к уменьшению клеточного притока метотрексата, что способствует более высоким концентрациям метотрексата в плазме у гомозиготных по АА пациентов. Было показано, что все гетеро- или гомозиготные носители аллеля А имеют неблагоприятный прогноз. Установлено, что аллель А связана с повышенным риском гепатотоксичности, а также с риском желудочно-кишечной токсичности и прерывания лечения, в то время как аллель G был ассоциирован с гипербилирубинемией после высокодозного МТХ [19]. Таким образом, наблюдается зависимость токсических проявлений МТХ от полиморфизма указанных генов.

Результаты лечения ОЛЛ у детей по программе ALL-MB-91 показывают, что, 5-летняя выживаемость больных ОЛЛ составляет 76%, причем для группы стандартного риска она оказалась 81%, а для группы высокого риска – 65% [20]. При проведении терапии по протоколу ALL-MB 2008 в 42,5% отмечалась гематологическая токсичность и в 36,8% – нейротоксичность. В 2015 г. начато исследование эффективности нового протокола ALL-MB 2015, который отличается более низкой частотой нейротоксичности – 21,7% [21].

При использовании протокола ALL IC-BFM 2002 в качестве основных видов токсичности можно выделить преобладание гематологической токсичности 3 и 4 степени у 53,6% и 23,2% пациентов соответственно. Метаболическая токсичность имела место в 28,6% случаев. При этом преобладала токсичность 1-2 степени тяжести. Однако применение высокодозного метотрексата 2-5 г/м<sup>2</sup> в протоколах mM и MM характеризуется отсутствием признаков тяжелых токсических осложнений (при условии, что детям проводилась адекватная, рекомендованная протоколом, сопроводительная терапия). К примеру, гепатотоксичность 4 степени отмечалась только у 10,4% пациентов. Тяжелая гематологическая токсичность наблюдалась не более чем в 15% случаев (в виде лейкопении, нейтропении 3-4 степени тяжести). Кожная токсичность, поражения слизистых оболочек (преимущественно в виде мукозитов) возникали в 15% случаев. При этом наблюдалась 3-4 степень тяжести осложнений [11].

При проведении блоковой терапии в группах больных ОЛЛ высокого риска во всех 100% случаев отмечалась лейко- и нейтропения 4 степени тяжести. В 75% случаев это повлекло за собой развитие тяжелого инфекционного процесса. Потребовалось назначение антибактериальных препаратов 2-3 ли-

нии в комбинации с противогрибковыми средствами. Проведение поддерживающей терапии по протоколу ALL IC-BFM 2002 сопровождалось развитием гепатотоксичности 1-2 степени тяжести (34,4% случаев), а также развитием гематологической токсичности 3-4 степени тяжести, которая проявлялась преимущественно в виде анемии, тромбоцитопении, лейко- и нейтропении 3-4 степени тяжести (53,4% случаев) [22].

При этом современные подходы к лечению помогают найти новые пути снижения токсичности высокодозного метотрексата без потери его эффективности. К примеру, системное выведение МТХ обеспечивается за счет клубочковой фильтрации и активной секреции из клеток почечных канальцев. В этом процессе участвуют белки, кодируемые генами SLC22A6, SLC22A8, SLC19A1, ABCG2, ABCG2 и ABCG4. Соответственно, при полиморфизмах данных генов можно прогнозировать нарушения элиминации МТХ [13]. Печеночная токсичность значительно выше у пациентов с MTHFR C677T, SLC19A1 G80 и ABCB1 C3435T. MTHFR C677T также связан с риском гемопозитической токсичности. [23] Результаты исследования свидетельствуют также о влиянии мутаций C677T гена MTHFR на уровень органной токсичности высокодозного метотрексата, более выраженном при увеличении длительности воздействия МТХ на ткани (при его 36-часовом введении, а также при замедленном клиренсе), что определяет возможность рассматривать факт наличия таких мутаций у получающих терапию МТХ детей как фармакогенетическую детерминанту повышенного риска развития орального мукозита [24].

Метотрексат, используемый в дозе 1-5 г/м<sup>2</sup>, является одним из основных препаратов современных протоколов лечения НХЛ – BNHLBFM 90/95. Терапия высокодозным метотрексатом сопровождается токсичностью со стороны кожи и слизистых оболочек, печени и почек. Степень выраженности токсичности метотрексата прямо пропорциональна длительности введения препарата. В целях снижения токсических проявлений были предприняты попытки уменьшить время инфузии метотрексата до 4 ч при лечении пациентов не только 1-2й групп риска, но и 3-4й (в том числе с поражением ЦНС) [22]. Клинические проявления токсического повреждения ЦНС при применении высоких доз МТХ по протоколу BNHLBFM 90 редкие и включают: головную боль, тошноту, рвоту, летаргию, нарушение зрения, афазию, гемипарез, парез, судороги, лейкоэнцефалопатию и арахноидит. Неврологический дефицит в 86% случаев обратим [25,26]. Явления мукозита 3-4 степеней наблюдались значительно реже при введении метотрексата в течение 4 ч, по сравнению с его 24-часовой инфузией, но и результаты лечения пациентов групп высокого риска оказались ниже (77% против 93%). Для локализованных (I-II) стадий В-НХЛ показатели БСВ были приблизительно оди-

наковы как при 4-х, так и при 24часовом введении метотрексата (95% и 100% соответственно) [23].

В России были предприняты попытки оптимизации терапии НХЛ, направленные на снижение токсичности. В 2015 г. представлены результаты 2 последовательных многоцентровых исследований (ВНХЛ 2004маб и ВНХЛ 2010маб), включивших пациентов детского возраста. Основной целью исследований был ответ на вопрос, возможно ли снижение дозы метотрексата с 5 до 1 г/м<sup>2</sup> при одновременном включении в программу терапии ритуксимаба. Курсы ПХТ были идентичны протоколу BNHLBFM 90, однако доза метотрексата в первых 2 индукционных курсах составила 1 вместо 5 г/м<sup>2</sup>/24 ч в целях уменьшения токсичности данного препарата. В результате удалось снизить нейротоксичность (отмечалась головная боль, купирующаяся самостоятельно в течение 48 ч; аллергическая реакция, нейропатия 1-2 степеней). Такая комбинированная иммунохимио-

терапия, несмотря на сниженную интенсивность, показала достаточную эффективность с достижением 5-летней ОВ 82 ± 8% [23].

Обращают внимание исследования, проведенные Самочатовой Е.В. и соавт [27]. Так, авторами представлены результаты лечения 83 больных (дети и подростки 2-17 лет, медиана 8,76 лет) В-клеточными неходжкинскими лимфомами и острым В-клеточным лейкозом по протоколу В-НХЛ/В-ОЛ, где доза метотрексата снижена с 5 до 1 мг/м<sup>2</sup>/24 ч при одновременном использовании ритуксимаба. Гематологическая токсичность лечения не превышала 1-2 степени (28,2%) [28]. К сожалению, данные по отдаленной эффективности не представлены.

Сводный анализ токсичности основных протоколов (по шкале NCI CTCAE v5.0) представлен в таблице 1.

**Таблица 1**

**Анализ токсичности высокодозного MTX при использовании различных протоколов лечения (по шкале NCI CTCAE v5.0)**

Протокол	Преобладающий вид токсичности	Степень по шкале NCI CTCAE v5.0	Частота встречаемости
ALL IC-BFM 2002/2009	Гепатотоксичность	1-2 степень	43,7% [22]
	Гематологическая	2-3 степень	53,4% [22]
	Нефротоксичность	1-2 степень	24,4% [22]
	Кардиотоксичность	1-2 степень	11,8% [22]
	Кожная токсичность	1 степень	32,1% [22]
BNHLBFM 90/95	Нефротоксичность	3-4 степень	12,4 % [23]
	Нефротоксичность	1-2 степень	29% [29]
	Гематологическая	1-2 степень	28,2% [28]
ALL-BFM-90	Гематологическая	3-4 степень	68,7% [30]
	Нейротоксичность	3-4 степень	22,2% [30]
	Гепатотоксичность	1-2 степень	14,8% [30]
ALL-MB 91	Гематологическая	3-4 степень	58,6% [31]
	Нейротоксичность	3-4 степень	10,2% [31]
	Кожная токсичность	2-3 степень	23,8% [31]
ALL-MB-2002	Гематологическая	3-4 степень	40,5% [31]
	Кожная токсичность	2-3 степень	19,6% [31]
COALL-St.Petersburg-92	Гематологическая	3-4 степень	51,6% [31]
	Кожная токсичность	1-2 степень	27,3% [31]

**Заключение.** Острый лимфобластный лейкоз и неходжкинские лимфомы являются потенциально излечимыми заболеваниями, что стало возможным благодаря применению современных протоколов лечения. Одним из основных препаратов, используемым в терапии, является метотрексат.

Различные программы лечения у детей претерпевали интенсификацию, подвергались многочис-

ленным модификациям, с учетом результатов и эффективности, накопленного опыта их применения и возможности воспроизведения. Эволюция подходов в назначении метотрексата шла по пути постепенного увеличения дозы препарата. В первых протоколах 1970-х гг. доза MTX составляла 50 мг, но по мере внедрения новых подходов сопроводительной терапии (например, использование кальция фоли-

та), стало возможным использование метотрексата в более высоких дозах, а значит, и получение более высоких результатов терапии. Тем не менее, достижение пятилетней общей выживаемости у подавляющего большинства детей с ОЛЛ и НХЛ сопряжено с непосредственными и отдаленными проявлениями токсичности проведенной терапии.

Выполненный анализ токсичности при использовании вышеприведенных протоколов лечения показал, что в соответствии с полученными данными переносимость терапии высокодозным МТХ можно признать удовлетворительной на фоне стандартных схем сопроводительного лечения. Частота случаев тяжелой токсичности может быть обусловлена неоднородностью выборки и большим числом курсов ПХТ. Случаи развития тяжелой токсичности не являются предикторами последующей неудовлетворительной переносимости и не служат поводом для отмены последующих курсов высокодозного МТХ [32]

В качестве перспективного направления совершенствования существующих протоколов выступает выделение отдельных прогностических факторов, разработка таргетных подходов на основе анализа

факторов риска. При индивидуализации программ можно достичь снижения интенсивности и дозировок используемых цитостатиков, и как следствие – снизить уровень токсичности. С целью прогнозирования вероятности развития токсичности метотрексата наиболее актуальным является изучение полиморфизма генов, участвующих в метаболизме и элиминации МТХ. Определение полиморфизма генов может играть важную роль в более раннем назначении гепатопротекторов, восстановленных форм фолиевой кислоты, что положительно влияет на предупреждение токсичности метотрексата.

**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

Окончательное одобрение рукописи: все авторы

**Список литературы**

1. Шервашидзе М.А., Валиев Т.Т. Совершенствование программ терапии острого лимфобластного лейкоза у детей: акцент на минимальную остаточную болезнь. // Онкогематология. – 2020. – Т.15, № 3. – С. 12-26.
2. Валиев Т.Т., Барях Е.А. Эволюция взглядов на диагностику и лечение лимфомы Беркитта. // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2014. – Т. 7, № 1. – С. 46–56.
3. Барях Е.А., Кременецкая А.М., Кравченко С.К., и др. Новый короткий высокоинтенсивный протокол терапии Беркиттоподобной лимфомы взрослых БПЛ –М –04: промежуточные результаты // Гематология и трансфузиология. – 2006. – Т. 51, № 6. – С. 3 –11.
4. Валиев Т.Т. Лимфома Беркитта у детей: 30 лет терапии // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2020. – Т. 99, № 4. – С. 35 –41.
5. Валиев Т.Т., Попа А.В., Левашов А.С. и др. Неходжкинские лимфомы у детей: 25 лет терапии // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2016. – Т. 9, № 4. – С. 420 – 437.
6. Алескерова Г.А., Шервашидзе М.А., Попа А.В. и др. Результаты лечения острого лимфобластного лейкоза у детей по протоколу ALL IC –BFM 2002 // Онкопедиатрия. – 2016. – Т. 3, № 4. – С. 302 – 308.
7. Валиев Т.Т., Морозова О.В., Ковригина А.М. и др. Диагностика и лечение анапластических крупноклеточных лимфом у детей // Гематология и трансфузиология. – 2012. – Т. 57, № 1. – С. 3 –9.
8. Dhingra H. Safe administration of high –dose methotrexate with minimal drug level monitoring: Experience from a center in north India // *Pediatr Blood Cancer*. – 2020. – vol. 67(11). doi: 10.1002/pbc.28394.
9. Kanwar V.S. Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia // *Pediatrics: General Medicine*. – 2021. – № 2. – Режим доступа: <https://emedicine.medscape.com/article/990113-overview>.
10. Totadri S. A single assessment of methotrexate levels at 42 hours permits safe administration and early discharge in children with lymphoblastic lymphoma and leukemia receiving high –dose methotrexate // *Pediatr Hematol Oncol*. – 2021. – vol. 38(5). – P. 434 – 443. doi: 10.1080/08880018.2020.1863535.
11. Vaishnavi K. Improving the safety of high –dose methotrexate for children with hematologic cancers in settings without access to MTX levels using extended hydration and additional leucovorin // *Pediatr Blood Cancer*. – 2018. – vol65(12). doi: 10.1002/pbc.27241.
12. Weinblatt M. Pediatric Acute Myelocytic Leukemia // *Pediatrics: General Medicine*. – 2020. – №22. – Режим доступа: <https://emedicine.medscape.com/article/987228-overview>
13. Иванова Н.М. Применение высоких доз метотрексата в лекарственной терапии детей с локализованной остеосаркомой. – Режим доступа: [https://umedp.ru/articles/primenenie\\_vysokikh\\_doz\\_metotreksata\\_v\\_lekarstvennoy\\_terapii\\_detey\\_s\\_lokalizovannoy\\_osteosarkomoy.html](https://umedp.ru/articles/primenenie_vysokikh_doz_metotreksata_v_lekarstvennoy_terapii_detey_s_lokalizovannoy_osteosarkomoy.html)

14. Алескерова Г.А. Лечение острого лимфобластного лейкоза у детей: обзор литературы // Медицинский совет. – 2016. – № 1. – С. 172–176.
15. Бойченко Э.Г., Петрова Э.М. Сравнительная эффективность терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в Санкт–Петербурге с использованием двух версий протокола COALL –92 // Онкогематология. – 2011. – № 3. – С. 8–17.
16. Гурьева О.Д., Савельева М.И., Валиев Т.Т. Обзор фармакогенетических аспектов токсичности метотрексата и 6–меркаптопурина при лечении острого лимфобластного лейкоза у детей // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2021. – Т. 8, № 3. – С. 79–85.
17. Tiwari P. Serum Creatinine Versus Plasma Methotrexate Levels to Predict Toxicities in Children Receiving High –dose Methotrexate // *Pediatr Hematol Oncol.* – 2015. – №32 (8). – P. 576–584. doi: 10.3109/08880018.2015.1087612.
18. Диникина Ю.В., Смирнова А.Ю., Голубева К.М. и др. Применение высоких доз метотрексата у детей с онкологическими заболеваниями: особенности сопроводительной терапии, оценка токсичности // Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО). – 2018. – Т. 5, № 2. – С. 11–18.
19. Клинические рекомендации. Острый лимфобластный лейкоз у детей. – Режим доступа: [https://medi.ru/klinicheskie-rekomendatsii/ostryj-limfoblastnyj-lejkoz-u-detej\\_14138/#part\\_7](https://medi.ru/klinicheskie-rekomendatsii/ostryj-limfoblastnyj-lejkoz-u-detej_14138/#part_7)
20. Валиев Т.Т. Современная стратегия диагностики и лечения неходжкинских лимфом у детей. Автореф. дисс. док. мед. наук. / Рос. онкол. науч. центр им. Н.Н. Блохина РАМН. Москва, 2014.
21. Seiter K. Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) // *Hematology.* – 2021. – №. 2. – Access mode: <https://emedicine.medscape.com/article/207631-overview> (Accessed 02/08/2022).
22. Schmiegelow, K. Advances in individual prediction of methotrexate toxicity: a review. // *British Journal of Haematology.* – 2009. – vol. 146(5). P. 489–503.
23. Румянцева Ю.В., Карачунский А.И., Румянцев А.Г. Оптимизация терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в России // *Педиатрия.* – 2009. – Т. 87, № 4. – С. 19–27.
24. Литвинов Д.В. Лечение острого лимфобластного лейкоза у детей: современные возможности и нерешенные проблемы // *Онкогематология.* – 2015. – № 10. – С. 30–37.
25. Алескерова Г.А. Лечение детей с острым лимфобластным лейкозом по программе ALL IC –BFM 2002: автореф. дисс. канд. мед. наук. – М.: 2018. – 25 с.
26. Sujatha Suthandiram, Gin–Gin Gan, Shamsul Mohd Zain, et al. // Effect of polymorphisms within methotrexate pathway genes on methotrexate toxicity and plasma levels in adults with hematological malignancies // *Pharmacogenomics.* – 2014. – vol. 15(11). P. 1479–1494.
27. Борис С.П., Липай Н.В., Попруженко Т.В. Генетический полиморфизм в метаболизме фолиевой кислоты как фактор риска развития мукозита при лечении онкогематологических заболеваний с использованием высоких доз метотрексата у детей // *Медицина.* – 2015. – Т. 88, № 1. – С. 15–19.
28. Коркина Ю.С., Валиев Т.Т. Современные тенденции в лечении агрессивных В–клеточных лимфом у детей // *Онкогематология.* – 2021. – Т. 16, № 2. – С. 21–27.
29. Евсютина Е.П., Диникина Ю.В., Белогурова М.Б., Александрович Ю.С. Профилактика токсичности при химиотерапии высокими дозами метотрексата у детей // *Педиатр.* – 2019. – Т. 10. – № 2. – С. 89–98.
30. Parasole R. Toxicity and efficacy of intrathecal liposomal cytarabine in children with leukemia/lymphoma relapsing in the central nervous system: a retrospective multicenter study // *Leuk Lymphoma.* – 2015. – №56 (3). – P. 650–655. doi: 10.3109/10428194.2014.927456
31. Самочатова Е.В., Шелихова Л.Н. Возможности и проблемы современной терапии неходжкинских лимфом у детей и подростков // *Педиатрия.* – 2011. – Т. 90. – № 4. – С. 37–43.
32. Дорохина Е.И. Отдаленные результаты и токсичность высокодозной химиотерапии взрослых больных диффузной В–крупноклеточной лимфомой по модифицированной программе NHL–BFM–90. Автореф. дисс. канд. мед. наук / ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина», Москва, 2016 г.
33. Михеев А.В. Оценка токсичности программной химиотерапии протокола БФМ – 90м у детей с острым лимфобластным лейкозом. Автореф. дисс. канд. мед. наук, ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет», Владивосток – 2004 г.
34. Бойченко Э.Г. Сравнительный анализ программ химиотерапии различной интенсивности в лечении острого лимфобластного лейкоза. Автореф. дисс. канд. мед. наук., ФГУ «Федеральный научно–клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии», Москва, 2011 г.
35. Диникина Ю.В., Смирнова А.Ю., Голубева К.М. и др. Применение высоких доз метотрексата у детей с онкологическими заболеваниями: особенности сопроводительной терапии, оценка токсичности // Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО). – 2018. – Т. 5, № 2. – С. 11–18.

**Бессмельцев С.С.***Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального-медико-биологического агентства»***ИКСАЗОМИБ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ****Резюме**

Иксазомиб – первый пероральный ингибитор протеасомы, одобренный в комбинации с леналидомидом-дексаметазоном (Ixa-Rd) для лечения пациентов с ММ, которые ранее получали  $\geq 1$  терапии. Одобрение было основано на результатах международного многоцентрового рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования III фазы TOURMALINE-MM1. TOURMALINE-MM1 продемонстрировало статистически значимое улучшение выживаемости без прогрессирования (PFS) при применении иксазомиба-Rd по сравнению с плацебо-Rd у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой (PPMM) (медиана PFS 20,6 и 14,7 месяцев) с ограниченной дополнительной токсичностью. В статье мы сообщаем об окончательном анализе общей выживаемости по результатам исследования TOURMALINE-MM1. Однако результаты клинических испытаний не всегда воплощаются в реальные результаты. Схема Ixa-Rd зарекомендовала себя как безопасный и эффективный вариант лечения для реальных пациентов с рецидивами/рефрактерными формами множественной миеломы. В любом случае, полная пероральная комбинированная терапия у пациентов с PPMM положила начало новой эре в лечении этого заболевания. Иксазомиб-Rd, полностью пероральный триплетный режим, является эффективным и хоро-

шо переносимым вариантом лечения пациентов с PPMM. Иксазомиб успешно комбинируют с другими препаратами (циклофосфамид, даратумумаб, помалидомид). В исследовании I/II фазы изучалась безопасность и эффективность иксазомиба/помалидомида/дексаметазона у пациентов, которые ранее проходили многократную терапию, были невосприимчивы только к леналидомиду или к леналидомиду и бортезомибу, или леналидомиду, бортезомибу и карфилзомибу. Учитывая многообещающие предварительные показатели ответа, особенно у пациентов, невосприимчивых как к леналидомиду, так и к ингибиторам протеасомы, комиссия NCCN включила иксазомиб/помалидомид/дексаметазон в качестве варианта лечения для пациентов с рецидивирующей/рефрактерной ММ, которые ранее получали по крайней мере две линии терапии, включая иммуномодулирующие агенты и ингибиторы протеасомы, и продемонстрировали прогрессирование заболевания на или в течение 60 дней после завершения последней терапии. Режимы на основе иксазомиба являются эффективными и хорошо переносимыми вариантами лечения пациентов с множественной миеломой.

**Ключевые слова:** иксазомиб, рецидивы/рефрактерные форма множественной миеломы, тройные комбинации, реальная клиническая практика, почечная недостаточность.

**Bessmeltsev S.S.***Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology***IXAZOMIB IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA****Abstract**

Ixazomib, the first oral proteasome inhibitor, is approved in combination with lenalidomide-dexamethasone (Ixa-Rd) for the treatment of MM patients who previously received  $\geq 1$  therapy. Approval was based on the results of an international multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study TOURMALINE-MM1. TOURMALINE-MM1 demonstrated a statistically significant improvement in progression-free survival (PFS) when using ixazomib-Rd compared with placebo-Rd in patients with recurrent/refractory multiple myeloma (RRMM) (median PFS 20.6 vs 14.7 months) with limited additional toxicity. In the article we report on the final overall survival analysis from TOURMALINE-MM1. However, the results of clinical trials are not always translated into real results.

The Ixa-Rd regimen has proven to be a safe and effective treatment option for real patients with RRMM. In any case, complete oral combination therapy in patients with PPMM has begun a new era in the treatment of this disease. Ixazomib-Rd, a fully oral triplet regimen, is an effective and well-tolerated treatment option for patients with RRMM. Ixazomib is successfully combined with other drugs (cyclophosphamide, daratumumab, pomalidomide). The phase I/II study studied the safety and efficacy of ixazomib/pomalidomide/dexamethasone in patients who had multiple prior therapies, were refractory to lenalidomide alone, or were refractory to lenalidomide and bortezomib, or lenalidomide, bortezomib, and carfilzomib. Considering promising preliminary response rates, especially in patients refractory to both lenalidomide and a PI, the

NCCN Panel has included ixazomib/pomalidomide/dexamethasone as a treatment option for patients with relapsed/refractory MM who have received at least two prior therapy including immunomodulatory agents and a proteasome inhibitor and have demonstrated disease progression on or within 60 days of completion of the

Множественная миелома (ММ) – гематологическая опухоль из плазматических клеток, характеризующаяся разнообразной симптоматикой, включающей анемию, поражение костей скелета, усталость, гиперкальцемию и почечную недостаточность [1]. В 2020 году во всем мире было диагностировано более 150 000 новых случаев ММ, и зарегистрировано более 100 000 смертей [2]. В России заболеваемость ММ, по данным на 2017 г., составила 2,78 на 100 000 населения, при этом впервые было диагностировано 4 075 случаев, умерли 2587 пациентов [3].

Исходы множественной миеломы (ММ) за последние 20 лет значительно улучшились, что связано, в первую очередь, с введением в клиническую практику ингибиторов протеасом и иммуномодулирующих препаратов, которые в настоящее время составляют основу режимов терапии, используемых для лечения ММ. Результаты многоцентровых клинических исследований последних лет продемонстрировали высокие результаты ответа и выживаемости при использовании триплетов, включающих по крайней мере два активных препарата и стероиды в сравнении с дуплетами. Однако течение ММ характеризуется развитием генетической гетерогенности и лекарственной устойчивости. Поэтому, хотя большинство пациентов отвечает на лечение, почти все они в конечном итоге рецидивируют, то есть ММ остается неизлечимым заболеванием [4,5]. Решение о лечении таких пациентов становится все более сложным. Устойчивость к одному или нескольким препаратам имеет особенно плохие результаты выживаемости, что является одним из наиболее важных факторов, влияющих на выбор терапии у пациента с прогрессированием заболевания [6]. Кроме того, у части пациентов наблюдается развитие нежелательных явлений (НЯ), требующих снижения доз препаратов и отмены терапии, поэтому остается потребность в разработке переносимой терапии.

Основными факторами, определяющими успех терапии рецидивов, рефрактерных форм ММ (РРММ), являются факторы: 1) связанные со специфическим лечением; 2) связанные с заболеванием; 3) связанные с пациентом [6,7].

Представленный обзор охватывает данные клинических исследований, которые демонстрируют роль иксазомиба в лечении рецидивирующей/рефрактерной ММ.

Иксазомиб (Нинларо) – первый пероральный ингибитор протеасомы, одобренный Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США в ноябре 2015 года

last therapy. Ixazomib-based regimens are effective and well-tolerated treatment options for patients with multiple myeloma.

**Keywords:** ixazomib, relapsed/refractory multiple myeloma, triplet combinations, real-world clinical practice, renal impairment.

в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном для лечения пациентов с ММ, получивших, по крайней мере, одну линию предшествующей терапии [8]. Препарат также получил одобрение в Европейском Медицинском Агентстве (EMA), а в 2017 г. зарегистрирован в Российской Федерации.

Иксазомиб – это новый селективный обратимый ингибитор 20S протеасомы, подобно бортезомибу являющийся производным борной кислоты. В миеломных клетках иксазомиб ингибирует протеасомную активность с концентрацией полумаксимального ингибирования (IC50), равной 3,4 нмоль. Он преимущественно связывается и подавляет хитотрипсиноподобную активность субъединицы  $\beta 5$  20S протеасомы. Иксазомиб быстро абсорбируется после приема через рот с достижением максимальной концентрации в плазме через 1 час. Препарат представляет собой стабильный эфир лимонной кислоты, который попадая в физиологическое состояние плазмы крови, быстро подвергается гидролизу с высвобождением активного соединения (MLN2238, иксазомиб). Абсолютная биодоступность одной принятой капсулы составляет 58%. Короткий период диссоциации иксазомиба от протеасомы (18 мин против 110 мин для бортезомиба) обеспечивает лучшее распределение в тканях.

Результаты объединенного популяционного анализа фармакокинетики больных раком (с гематологическими и негематологическими злокачественными новообразованиями), который включал четыре исследования фазы I иксазомиба, показали, что клиренс иксазомиба не изменяется у пациентов с легкой или умеренной почечной недостаточностью, определяемой как клиренс креатинина 30-89 мл/мин, подтверждая вывод о том, что у этих пациентов не требуется модификация дозы иксазомиба [9]. В исследовании Gupta N. et al. была поставлена цель охарактеризовать фармакокинетику дозы иксазомиба у больных раком с нормальной функцией почек или тяжелой почечной недостаточностью, включая конечную стадию, требующую гемодиализа. После однократной дозы 3 мг иксазомиб быстро всасывался независимо от функционального состояния почек. Установлено, что системные воздействия иксазомиба были на 38% и 39% выше у пациентов с тяжелым нарушением функции почек или конечной стадией, требующей диализа. По заключению авторов, уменьшенная начальная доза 3 мг рекомендуется для пациентов с ММ с тяжелой стадией почечной недостаточности или диализ-зависимой почечной

недостаточностью, поскольку ожидается, что доза 3 мг обеспечит системные воздействия иксазомиба у этих пациентов, которые сопоставимы с теми, которые наблюдаются у пациентов с нормальной функцией почек после получения рекомендуемой дозы, равной 4 мг [10,11]. Иксазомиб был примерно на 99% связан с белками плазмы при всех трех стадиях почечной недостаточности, что указывает на то, что функция почек не изменяет степень связывания белка плазмы для иксазомиба. У пациентов с терминальной стадией, нуждающихся в гемодиализе, концентрации иксазомиба были одинаковыми на протяжении всего сеанса гемодиализа, указывая на то, что иксазомиб не является диализуемым. Кроме того, клиренс гемодиализа иксазомиба составлял менее 2 мл/мин у всех пациентов с терминальной стадией, что менее 10% от общего системного клиренса (2 л/ч) [9], и предполагает, что гемодиализ оказывает незначительное влияние на клиренс иксазомиба. Эти результаты указывают на то, что иксазомиб можно принимать независимо от сроков диализа. Таким образом, основываясь на результатах фармакокинетики и безопасности, уменьшенная доза иксазомиба, равная 3 мг (на 1, 8 и 15 день 28-дневных циклов), рекомендуется для пациентов с ММ с тяжелой почечной недостаточностью или терминальной стадией, требующей гемодиализа. Стандартная доза 4 мг рекомендуется для пациентов с нормальной функцией почек, легкой или умеренной почечной недостаточностью. Пациентам, нуждающимся в гемодиализе, иксазомиб можно назначать независимо от сроков диализа.

В доклинических исследованиях иксазомиб продемонстрировал синергизм действия с леналидомидом. Было показано, что иксазомиб сохраняет противоопухолевую активность в клеточных линиях, полученных от пациентов с резистентностью к бортезомибу, леналидомиду и дексаметазону, и даже способен преодолевать резистентность к бортезомибу [12].

В клинических исследованиях ранних фаз (1/2) иксазомиб применялся перорально 1 раз в неделю в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном у пациентов с множественной миеломой, ранее не получавших лечение, и продемонстрировал многообещающую эффективность (58% пациентов, результаты которых были включены в анализ, достигли полного либо очень хорошего частичного ответа) и управляемый профиль безопасности: зафиксировано лишь несколько случаев возникновения периферической нейропатии [13]. Результаты данного исследования показали возможность проведения долгосрочной терапии в течение более 4 лет

В исследовании фазы I было включено 60 пациентов с рецидивами/рефрактерными формами множественной миеломы (медиана числа предшествующих линий терапии 4: бортезомиб, леналидомид, талидомид и карфилзомиб/маризомиб у 88%, 88%,

62% и 5% больных соответственно) [14]. Больным был назначен иксазомиб в дозах от 0,24 до 2,23 мг/м<sup>2</sup> (дни 1, 4, 8, 11; 21-дневные циклы). При дозе равной 2,23 мг/м<sup>2</sup> наблюдалась токсичность, ограничивающая дальнейшее лечение (сыпь 3 ст. тяжести; тромбоцитопения 4 ст. тяжести – тромбоциты <10 × 10<sup>9</sup>/л не менее 7 дней). Максимальная допустимая доза составила 2,0 мг/м<sup>2</sup>, которую получили 40 пациентов. Медиана числа циклов иксазомиба составила 4 (диапазон 1-39); 18% получили ≥12 циклов. В целом нежелательные явления (НЯ) выявлены у 88% больных: тошнота (42%), тромбоцитопения (42%), усталость (40%) и сыпь (40%); НЯ ≥3 степени, включали тромбоцитопению (37%) и нейтропению (17%); периферическая нейропатия 1/2 степени обнаружена у 12%. Два пациента умерли во время исследования (оба случая считаются несвязанными с лечением). Конечный период полураспада иксазомиба составил от 3,3 до 7,4 дней. 15% больных достигли частичного ответа (ЧО) или лучше (стабилизация опухолевого процесса или выше – 76%).

Между тем, по результатам исследования Kumar S.K. et al. [15], дозозимитирующей токсичностью были гастроинтестинальные симптомы (тошнота, рвота и диарея) и кожная сыпь, а максимальной переносимой дозой при еженедельном приеме иксазомиба – 2,97 мг/м<sup>2</sup>. Следует отметить, что и в это исследование вошли больные ММ, получившие 4 (медиана) линии предшествующей терапии, т.е. пациенты в обоих исследованиях были тяжело предлеченные.

В исследовании II фазы эффективность и безопасность иксазомиба оценивалась в комбинации с дексаметазоном [16]. Использованы 2 дозовых режима иксазомиба (4 мг и 5,5 мг в неделю в течение 3 из 4 недель) с 40 мг в неделю дексаметазона. Среди 70 участников исследования по 35 пациентов получали ту или иную дозу иксазомиба. Медиана линий предшествующей терапии составила 4; ранее получали леналидомид 79%, помалидомид – 14% и бортезомиб – 30% больных. Рефрактерными к леналидомиду были 46% больных. В целом 30 (43%; 95%CI: 31-55) пациентов достигли подтвержденного частичного ответа или лучше, при этом 31% достигли ответа при дозе иксазомиба 4 мг и 54% – 5,5 мг. Медиана выживаемость без событий (EFS) для всей исследуемой популяции составила 8,4 мес. (95%CI: 4,5-12,8), причем различий по дозам не получено (рис. 1). Общая выживаемость за 1 год составила 96%. Выяснилось, что EFS составила 5,7 мес. (95%CI: 3,7-9,2) для пациентов, получавших ранее бортезомиб и 11,0 мес. (95% CI: 6,0-14,5) для бортезомиб-наивных пациентов. Неблагоприятные события 3 или 4 степени, наблюдались у 11 (32%) пациентов при дозе иксазомиба 4 мг и у 21 (60%) при дозе 5,5 мг. Снижение дозы иксазомиба было более частым в когорте пациентов с дозой 5,5 мг (16 против 10 случаев).

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Таким образом, представленные здесь данные подтверждают активность режима иксазомиб+дексаметазон. Оценена эффективность 2 дозовых режимов иксазомиба – 4 мг и 5,5 мг в комбинации с дексаметазоном у пациентов с ММ с рецидивом/

рефрактерностью. По заключению авторов, такое сочетание препаратов обладает хорошей эффективностью, имеет более высокую частоту ответа при дозе 5,5 мг, но, в то же время, эта доза обладает большей токсичностью. Доза равная 4 мг является оптимальной.

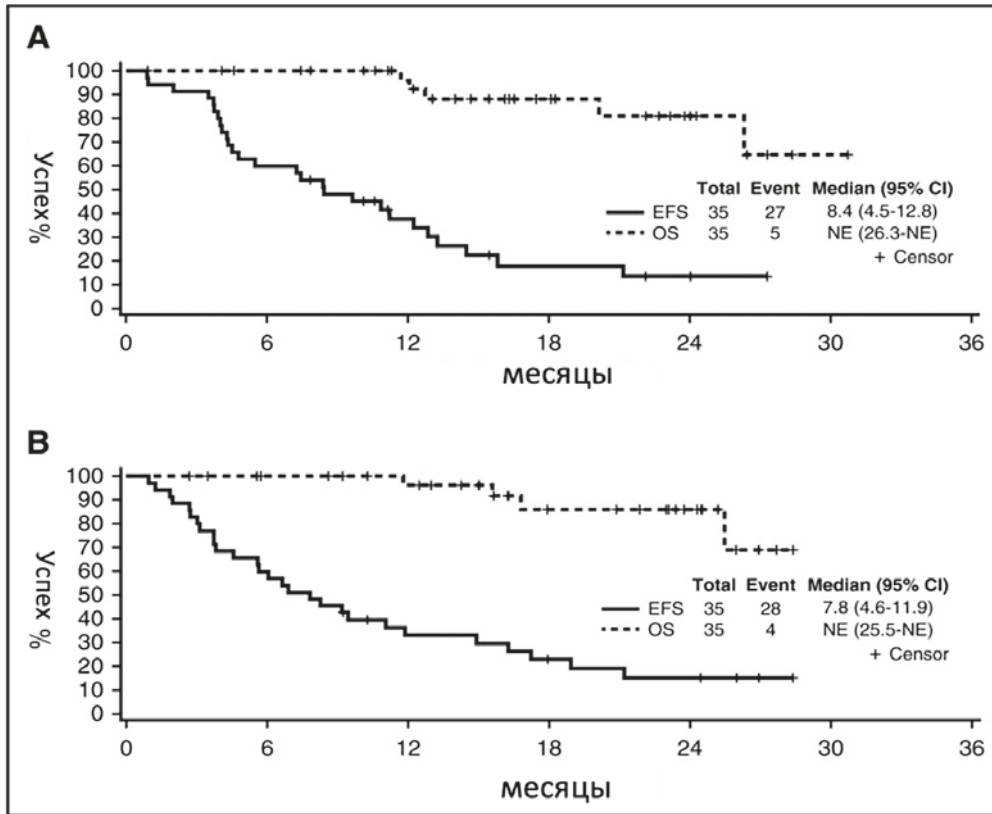


Рисунок 1. Бессобытийная и общая выживаемость при использовании двух дозовых режимов иксазомиба [16]

Примечание. А – доза иксазомиба 4 мг, В – доза иксазомиба 5,5 мг, EFS – бессобытийная выживаемость, OS – общая выживаемость, NE – не оценивалась

Несмотря на эффективность двухкомпонентных схем терапии, в том числе дуплета иксазомиб+дексаметазон, к настоящему времени терапевтические варианты при РРММ значительно расширились и привели к появлению тройных комбинаций на основе иксазомиба. В доклинических исследованиях иксазомиб продемонстрировал, во-первых, активное воздействие на жизнеспособность и апоптоз опухолевых клеток, а во-вторых – синергизм с леналидомидом. Так, в исследовании D. Chauhan et al. [17] установлено, что при воздействии на клетки множественной миеломы MLN2238 (биологически активная форма иксазомиба цитрата) преимущественно ингибирует химотрипсинаподобную активность протеасомы и индуцирует накопление убиквитинированных белков. Кроме того, подавляет рост и индуцирует апоптоз в ММ-

клетках, устойчивых к бортезомибу, не влияя на жизнеспособность нормальных клеток. В мышинных моделях клетки ММ (5 × 10<sup>6</sup> клеток/мышь) были имплантированы самкам мышей (в возрасте 6 недель). На 28-30 день мыши были рандомизированы на три группы – внутривенно MLN2238 (11 мг/кг) или бортезомиб (1 мг/кг) по два раза в неделю в течение 3 недель; 3 группа была контрольной. Выявлено существенное уменьшение объема опухоли у мышей после внутривенных введений MLN2238 по сравнению с бортезомибом и мышами контрольной группы. Значительно увеличилась (p < 0,05) выживаемость мышей, получавших MLN2238 (11 мг/кг) или бортезомиб (1 мг/кг), по сравнению с контролем (рис. 2). И, наконец, при использовании MLN2238 с леналидомидом или дексаметазоном наблюдалось синергичное воздействие на опухолевые клетки.



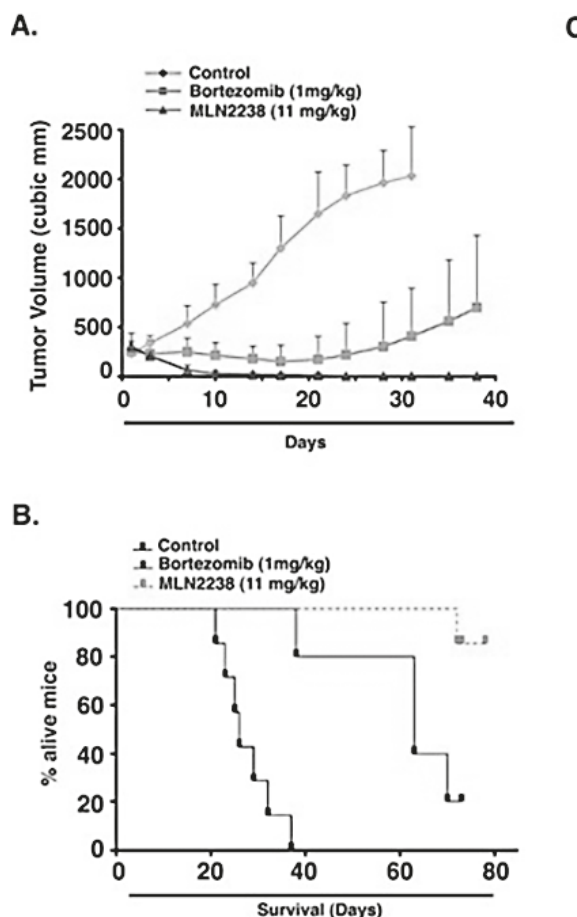


Рисунок 2. MLN2238 подавляет рост трансплантированных ММ-клеток человека у мышей СВ-17 SCID [17]

Примечание. А – среднее и стандартное отклонение объема опухоли (мм<sup>3</sup>) показано у мышей (верхняя кривая – контроль, средняя – бортезомиб, нижняя – MLN2238); В – выживаемость мышей (верхняя кривая – MLN2238, средняя – бортезомиб, нижняя – контроль). MLN2238 – биологически активная форма иксазомиба цитрата

В японском исследовании, с целью уменьшения НЯ при сохранении эффективности при рецидивирующей/рефрактерной ММ, использован иксазомиб в возрастающих дозах в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном [18]. Иксазомиб вводили на 1, 8 и 15 день каждого 28-дневного цикла, леналидомид на 1-21 день и дексаметазон на 1, 8, 15 и 22-й день (Ixa-Rd). Пациенты были разделены на две группы в соответствии с начальной дозой иксазомиба: группа стандартной (фиксированной) дозы (4 мг) и группа эскалации дозы, т.е. начальная доза 2,3 мг иксазомиба с увеличением дозы до 4 мг в зависимости от переносимости. Установлено, что у больных при начальной дозе 2,3 мг иксазомиба с последующим ее увеличением было меньше перерывов в лечении из-за НЯ по сравнению с группой, получающей стандартную дозу 4 мг. Причем число пациентов, у которых наблюдалась непереносимость лекарственных препаратов до терапии Ixa-Rd, составило ноль в группе с начальной дозой 2,3 мг и 14% – в группе со стандартной дозой. Частота гематологических осложнений 3 или более степени и не-

гематологических побочных эффектов 2 или более степени была ниже в группе с повышением дозы, чем в группе со стандартными дозами. Среднее время до прекращения лечения было значительно больше в группе с повышением дозы, чем в группе со стандартной дозой. Не было существенной разницы в частоте ответа между двумя группами и частоте контроля над опухолевым процессом (70% против 80%). Результаты этого исследования показывают, что глубокий ответ может быть получен путем соответствующего титрования дозы даже при начальной низкой дозе.

Доклинические данные и результаты исследований I и II фазы стали основой для проведения рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования III фазы TOURMALINE-MM1 [19].

Согласно рекомендациям международной рабочей группы, ключевым фактором, определяющим выбор второй линии терапии (первого рецидива), является устойчивость к леналидомиду. При этом следует обратить внимание еще на 2 фактора – высокий риск и

ослабленный соматический статус пациента.

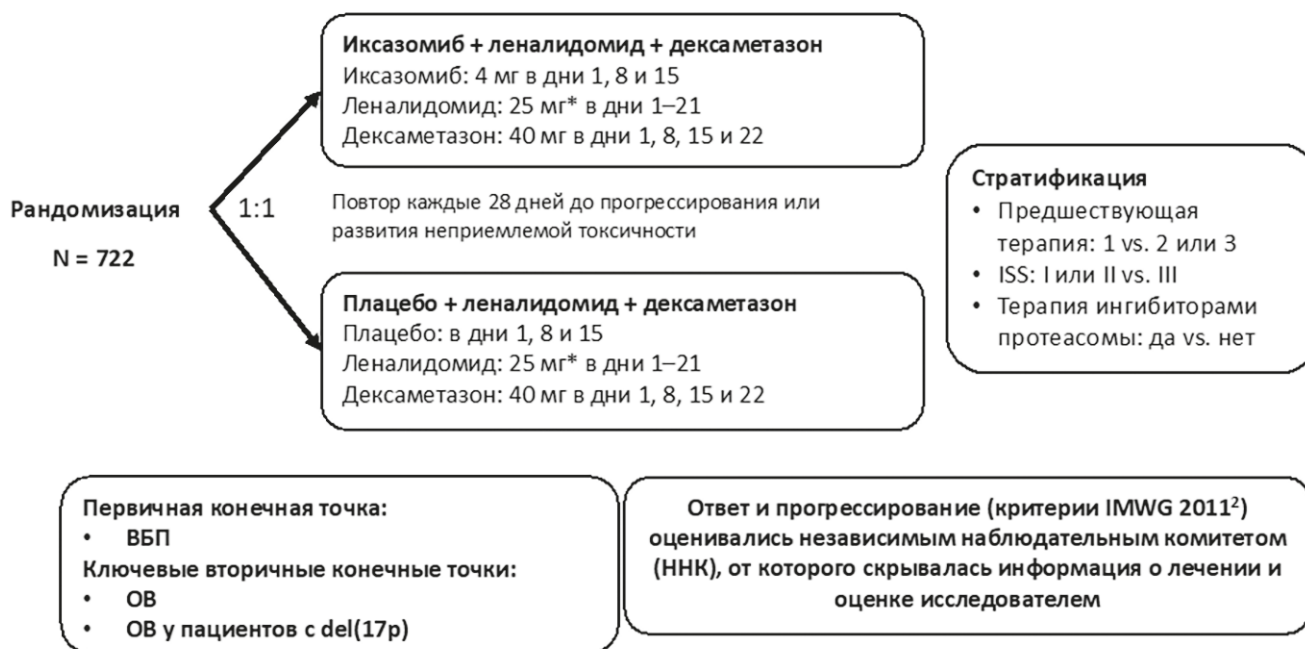
В нескольких рандомизированных исследованиях оценивалась эффективность Rd и Rd + третий препарат (один из ингибиторов протеасомы – карфилзомиб или иксазомиб) или моноклональные антитела (элотузумаб или даратумумаб). Пациенты, рефрактерные к леналидомиду, были исключены из исследования. Убедительных данных об эффективности триплетов на основе леналидомида у пациентов с рефрактерностью к леналидомиду нет, поэтому такие схемы редко используются в данной ситуации.

В исследовании TOURMALINE-MM1 участвовало 722 пациента с рецидивирующей/рефрактерной ММ [19]. Пациенты были рандомизированы в соотношении 1:1 для проведения 28-дневными циклами терапии Ixa-Rd: иксазомиб 4 мг перорально или плацебо в 1, 8 и 15 дни; кроме того, все пациенты по-

лучали леналидомид внутрь в дозе 25 мг в 1-21 дни цикла (у пациентов с клиренсом креатинина  $\leq 60$  или  $\leq 50$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> в дозе 10 мг) и дексаметазон внутрь в дозе 40 мг в 1, 8, 15 и 22 дни (Ixa-Rd vs placebo-Rd). В исследование включались пациенты с 1-3 линиями предшествующего лечения (медиана 1 линия), которые, в ряде случаев, ранее получали бортезомиб (69%) и леналидомид (12%), но не были к ним рефрактерными. То есть пациенты, рефрактерные к леналидомиду или бортезомибу, были исключены из исследования. Поэтому стратификация осуществлялась в зависимости от количества ранее проводившихся линий терапии (1 vs 2 или 3), в зависимости от предшествующего применения ингибиторов протеасомы, а также стадии по ISS (I или II vs III). Терапия продолжалась до прогрессирования заболевания или развития непереносимости терапии (дизайн исследования представлен на рисунке 3).

**Рис. 3. TOURMALINE-MM1: исследование фазы 3 перорального приема иксазомиба 1 раз в неделю в сочетании с леналидомидом и дексаметазоном**

Дизайн исследования: международное, двойное слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое



\* 10 мг у пациентов с клиренсом креатинина  $\leq 60$  или  $\leq 50$  мл/мин, в зависимости от местной практики либо инструкции по применению.

1. Moreau P et al. N Engl J Med 2016;374(17):1621-34.  
2. Rajkumar S, et al. Blood 2011;117:4691-5.

*Примечание. ВБП – выживаемость без прогрессирования, ОВ – общая выживаемость, IMWG – международная рабочая группа по диагностике и лечению множественной миеломы*

Коррекция доз в случае развития токсических эффектов допускалась и проводилась согласно инструкции по медицинскому применению каждого из исследуемых препаратов и соответствующим руководствам, что предусмотрено в протоколе иссле-

дования. Первичной конечной точкой являлась выживаемость без прогрессирования (PFS). Вторичные конечные точки включали общую выживаемость (OS) и OS больных с делецией 17p. Цитогенетические аномалии высокого риска были определены

как del(17p), t(4;14) и t(14;16), с добавлением амплификации 1q21 для расширенной цитогенетики высокого риска. Выделено 2 группы больных в количестве 360 и 362, которые получали Ixa-Rd или placebo-Rd.

К моменту закрытия базы данных для проведения первого анализа (30 октября 2014 года) медиана продолжительности наблюдения составила 14,8 мес. для группы Ixa-Rd и 14,6 месяца для группы placebo-Rd. Общая частота ответов составила 78,3% в группе Ixa-Rd и 71,5% - в группе placebo-Rd (P = 0,04). Причем в группе Ixa-Rd большее количество пациентов имели очень хороший частичный ответ (охЧО) и полный ответ. Полный ответ (ПО) установлен у 12 и 7,0% пациентов соответственно. Ответы достигались быстро, были стойкими и становились более глубокими при увеличении длительности терапии. Медиана PFS (mPFS) составила 20,6 против 14,7 мес. (HR = 0,74; P = 0,01), т.е. разница в пользу Ixa-Rd равнялась 5,9 мес. Коэффициент риска прогрессирования заболевания или смертельного исхода составил 0,74 (95%CI: 0,59 – 0,94; P = 0,01). Преимущество по PFS получено во всех выделенных подгруппах пациентов, включая высокий цитогенетический риск, низкий клиренс креатинина, стадию III по ISS и возраст >75 лет. Медиана выживаемости без прогрессирования в подгруппе пациентов с цитогенетическими аномалиями высокого риска (75 пациентов в группе иксазомиба и 62 пациента в группе плацебо) составила 21,4 месяца и 9,7 месяца соответственно (HR=0,54 в группе иксазомиба; 95%CI: 0,32-0,92; P = 0,02). У пациентов с del(17p) и с изолированной t(4;14) или t(14;16) наблюдалось сход-

ное преимущество Ixa-Rd vs placebo-Rd в отношении PFS. Медиана выживаемости без прогрессирования в подгруппе пациентов с del(17p) (36 пациентов в группе иксазомиба и 33 пациента в группе плацебо) составила 21,4 месяца и 9,7 месяца соответственно (HR = 0,60; 95%CI: 0,29-1,24), в подгруппе пациентов с t(4;14) без del(17p) или t(14;16) без del(17p) (36 в группе иксазомиба и 25 в группе плацебо) составила 18,5 месяца и 12,0 мес. соответственно (HR = 0,65; 95%CI: 0,25-1,66). Медианы PFS в группах высокого и стандартного риска (21,4 мес. и 20,6 мес.) мало различались. 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).

Обращала на себя внимание высокая эффективность Ixa-Rd у пациентов с двумя или тремя линиями предшествующей терапии (HR = 0,88), в группе как наивных к бортезомибу или леналидомиду пациентов, так и получавших ранее эти препараты. Медиана общей выживаемости не была достигнута.

Однако она была достигнута при более длительном периоде наблюдения за больными, вошедшими в исследование TOURMALINE-MM1 [20]. В группах Ixa-Rd и placebo-Rd медиана наблюдения составила уже 85,0 и 85,1 мес. соответственно. Результаты оказались неожиданными – общая выживаемость существенно не различалась между группами (HR = 0,939; 95%CI: 0,784 до 1,125; P = 0,495). Медиана OS, как видно из рисунка 4А, составила 53,6 мес. (95%CI: 49,25 до 62,95) в группе Ixa-Rd и 51,6 мес. (95%CI: 44,78 до 59,14) в группе placebo-Rd. 7-летняя выживаемость достигла 30,8 и 29,8 мес. соответственно.

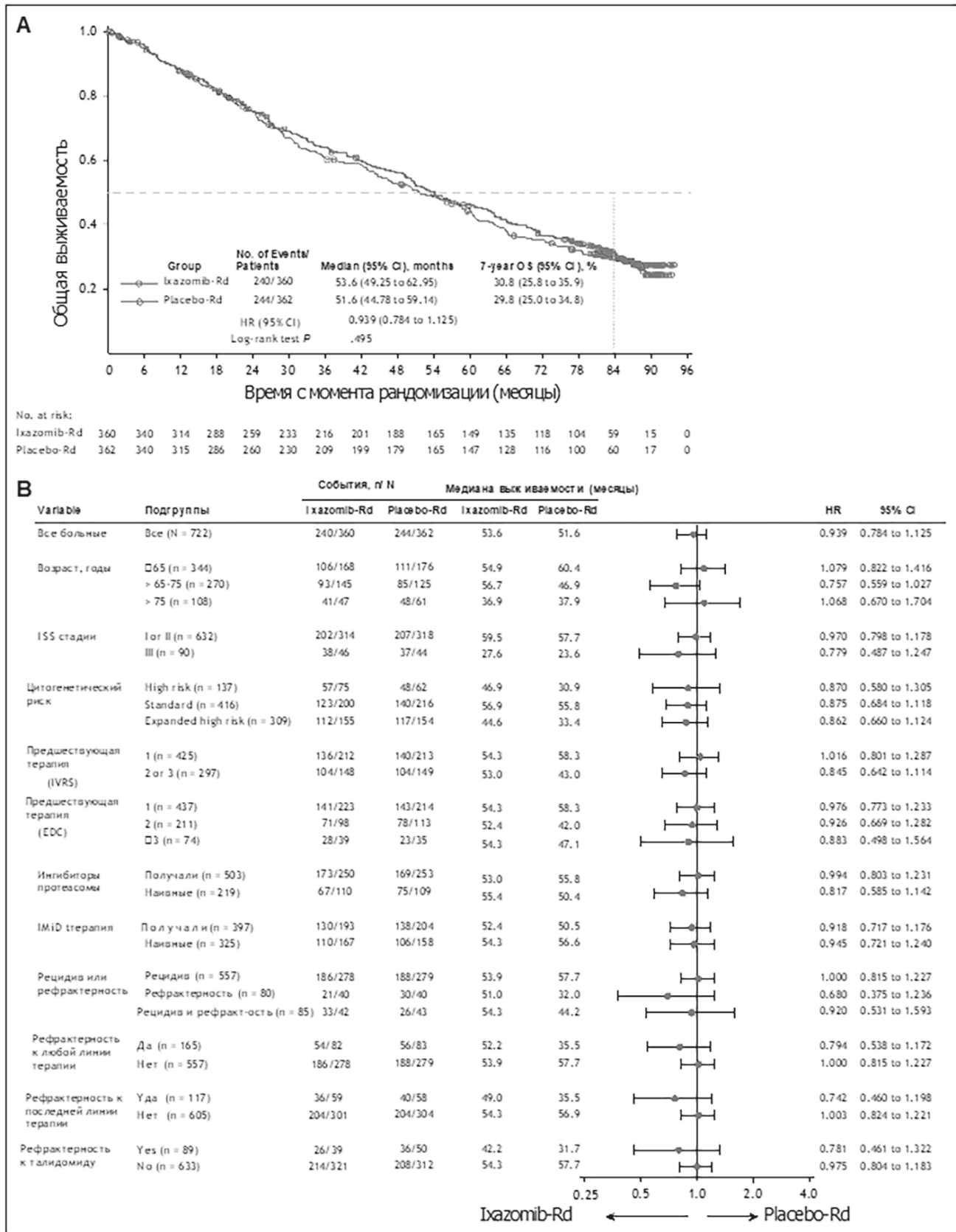


Рисунок 4. Общая выживаемость больных ММ, получивших Ixa-Rd по сравнению с placebo-Rd [20]  
Примечание. А – медиана общей выживаемости (верхняя кривая Ixa-Rd, нижняя - placebo-Rd);  
В – общая выживаемость по результатам подгруппового анализа; IMiD -терапия – терапия иммуномодуляторами

Триплет Ixa-Rd зарекомендовал себя у пациентов с изолированной del(17p) (HR = 0,916; 95%CI: 0,516 до 1,626) и у пациентов с высоким цитогенетическим риском (HR = 0,870; 95%CI: 0,580 до 1,305) (рис. 4B). Медиана OS в группе пациентов Ixa-Rd с высоким цитогенетическим риском была выше (на 16 мес.) по сравнению с placebo-Rd. При этом в группе Ixa-Rd медиана OS при высоком риске составила 46,9 мес., а при стандартном риске 56,9 мес. (HR = 870 и HR = 875). Таким образом, добавление иксазомиба к Rd приблизило, по сути, к преодолению высокого риска у пациентов с рецидивирующей MM.

В других подгруппах пациентов схема Ixa-Rd по сравнению с placebo-Rd выявила положительную тенденцию при рефрактерности к любой (HR = 0,74; 95%CI: 0,538 до 1,172) или к последней (HR = 0,74; 95%CI: 0,460 до 1,198) линии лечения, или рефрактерности к талидомиду (HR = 0,781; 95%CI: 0,461 до 1,322); стратифицированных как ISS III (HR = 0,779; 95%CI: 0,487 до 1,247); получивших 2-3 предшествующие линии терапии (HR = 0,845; 95%CI: 0,642 до 1,114).

Медиана времени до следующей терапии составила 29,7 (95% CI: 24,51-32,85) и 26,9 (95%CI: 22,34-30,52) мес. в группах Ixa-Rd и placebo-Rd соответственно. Последующие методы лечения включали даратумумаб (24,7% против 33,9%), бортезомиб (56,8% против 61,8%) и карфилзомиб (27,0% против 33,5%) в группах Ixa-Rd и placebo-Rd соответственно.

Медиана OS у пациентов, получивших последующую терапию, составила 54,3 (95%CI: 49,84 до 62,95) по сравнению с 58,1 (95%CI: 50,30 до 60,94) мес. в группах Ixa-Rd и placebo-Rd соответственно (HR = 0,985; 95%CI: от 0,800 до 1,213). В то же время у 212 пациентов, которые не получали последующую терапию, медиана OS составила 50,4 (95%CI: 26,97 до 76,94) по сравнению с 31,5 (95%CI: 22,70 до 50,17) мес. Среди пациентов, получавших даратумумаб в последующих линиях терапии, медиана общей выживаемости была 78,9 против 83,4 мес., а не получавших – 49,2 против 35,5 мес. соответственно. При назначении в последующих линиях терапии ингибиторов протеасомы – 52,0 vs 56,9 мес., а у остальных – 54,6 vs 48,8 мес. в группах Ixa-Rd и placebo-Rd соответственно.

Таким образом, по результатам ключевого глобального исследования III фазы TOURMALINE-MM1,

применение триплета иксазомиб-Rd приводило к значительному улучшению выживаемости без прогрессирования (PFS) по сравнению с плацебо-Rd (медиана 20,6 против 14,7 месяцев), медиана OS не достигнута. Однако обращал на себя внимания окончательный анализ общей выживаемости (OS), который не выявил значительного улучшения при применении иксазомиба-Rd по сравнению с плацебо-Rd в общей популяции (медиана 53,6 против 51,6 месяцев; разница 2 мес.). Польза при расчете OS в общей популяции была сведена на нет применением последующей терапии ( $\geq 70\%$  пациентов). Но ингибиторы протеасомы и даратумумаб назначались чаще в группе плацебо-Rd из-за более раннего прогрессирования заболевания по сравнению с группой иксазомиб-Rd. Кроме того, у пациентов, которые не получали последующую терапию, наблюдалась большая польза от применения иксазомиба-Rd, чем плацебо-Rd, по сравнению с теми, которые получали терапию.

Эффективность Ixa-Rd нашла подтверждение в исследовании, проведенном в Китае (отдельное региональное рандомизированное плацебо-контролируемое исследование III фазы), в котором участвовали пациенты с рецидивами/рефрактерными формами MM [21]. Пациенты были рандомизированы (1:1) для получения иксазомиба в дозе 4,0 мг или плацебо в дни 1, 8 и 15, плюс леналидомид в дозе 25 мг в дни 1-21 и дексаметазон в дозе 40 мг в дни 1, 8, 15 и 22-й в 28-дневных циклах. Рандомизация была стратифицирована в соответствии с количеством предшествующих линий терапии, стадией заболевания и предшествующим воздействием ингибиторами протеасом. В общей сложности были рандомизированы 115 китайских пациентов (57 пациентов получали иксазомиб, 58 – плацебо). При медиане наблюдения 7,4 мес. в группе больных иксазомиб-Rd и 6,9 мес. – в placebo-Rd наблюдалось 67 событий (подтвержденное прогрессирование или смерть): 30 (53%) и 37 (64%) больных в группе иксазомиб-Rd и placebo-Rd соответственно. Отмечено существенное (на 67%) улучшение PFS при применении иксазомиба в сравнении с плацебо (HR = 0,598, 95%CI: 0,367–0,972; p = 0.035; медиана составила 6,7 мес. (95%CI: 4,63–9,53) против 4,0 мес. (95%CI: 2,79–5,52) (рис. 5).

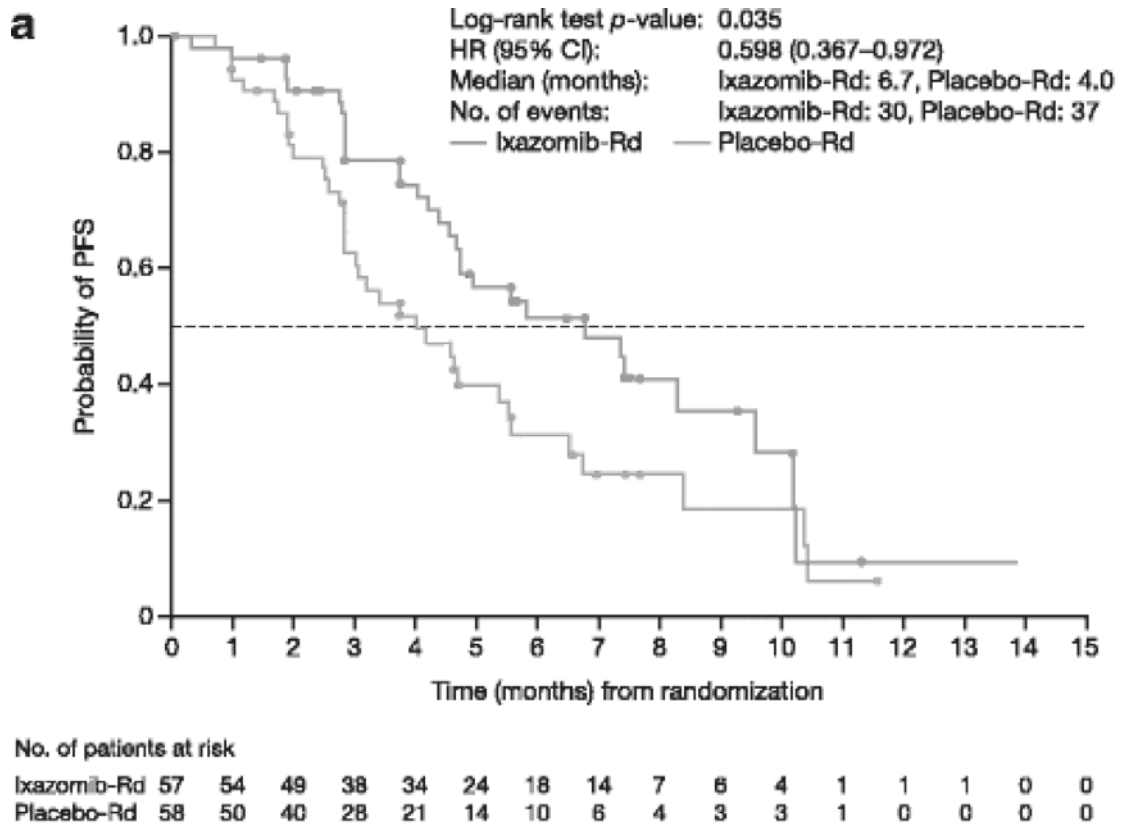


Рисунок 5. Кривые беспрогрессивной выживаемости по Kaplan–Meier при использовании Ixazomib-Rd (иксазомиб+леналидомид+дексаметазон) – верхняя кривая и Placebo-Rd (плацебо+леналидомид+дексаметазон) – нижняя кривая [21]

При медиане наблюдения 20,2 и 19,1 мес. в группах, получавших иксазомиб и плацебо, 21 (37%) и 36 (62%) пациентов умерли, главным образом, из-за прогрессии миеломы – 16/21 (76%) и 27/36 (75%) соответственно. В китайском исследовании медиана общей выживаемости достигнута и составила 25,8 мес. (95%CI: 19,42 – не поддается оценке) против 15,8 мес. (95%CI: 9,95–21,29) (рис. 6.). В этом

исследовании отмечено улучшение OS на 139% при применении иксазомиба-Rd по сравнению с плацебо-Rd ( $p = 0,001$ ), причем с 10-месячной разницей между группами. Преимущество OS при применении иксазомиба-Rd наблюдалось во всех анализируемых подгруппах, и не зависело от возраста, статуса заболевания, предшествующей терапии и функции почек [21].

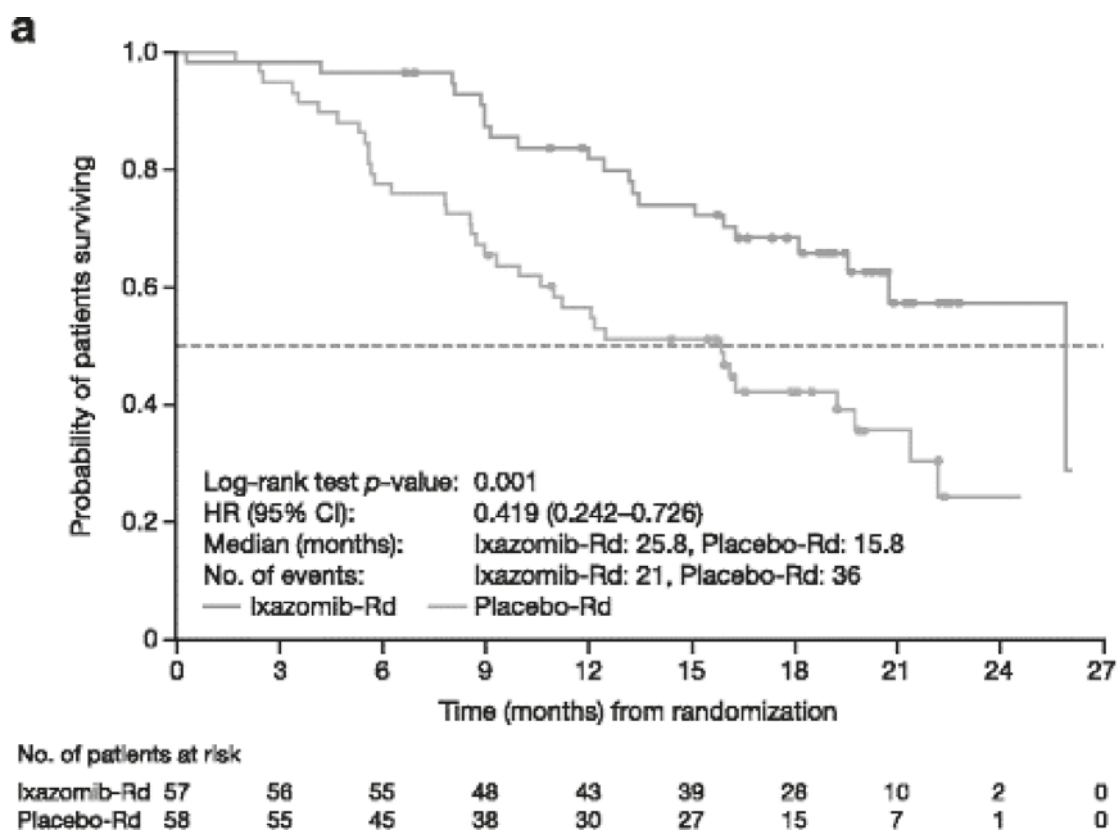


Рисунок 6. Кривые общей выживаемости по Kaplan–Meier при использовании Ixazomib-Rd (иксазомиб+леналидомид+дексаметазон) – верхняя кривая и Placebo-Rd (плацебо+леналидомид+дексаметазон) – нижняя кривая (медиана наблюдения – 20,2 и 19,1 мес. соответственно) [21]

Таким образом, в этом исследовании убедительно продемонстрировано существенное улучшение как PFS, так и OS в группе пациентов, получавших лечение триплетом Ixa-Rd в сравнении с группой placebo-Rd. Однако, следует отметить, что китайское исследование было относительно короче, чем TOURMALINE-MM1. Кроме того, пациенты в Китае не имели доступа к широкому спектру новых одобренных или исследуемых препаратов, доступных в Северной Америке и Европе. Этот результат может свидетельствовать о том, что в странах с ограниченной доступностью новых терапевтических вариантов польза от применения иксазомиба-Rd более очевидна.

В последующем, в исследовании Spencer A. et al., был проведен анализ отдаленных результатов исследования TOURMALINE-MM1 [22]. Этот анализ включал пациентов из стран с развивающимися рынками (Австралия, Китай, Новая Зеландия, Россия, Сингапур, Южная Корея и Турция), где доступность новых терапевтических средств (даратумумаб, элутузумаб, изатуксимаб и CAR T-клеточная терапия) во время исследования TOURMALINE-MM1 была ограниченной. На момент анализа медиана наблюдения составила 85,4 мес. в группе, получавшей иксазомиб, и 84,5 мес. в группе, получавшей плацебо, с 49 и 56 смертями соответственно. Примечательно, что по

результатам этого анализа, медиана OS была на 32,6 мес. больше в группе Ixa-Rd (63,5 мес.) по сравнению с группой placebo-Rd (30,9 мес.; HR = 0,794; 95%CI: 0,530-1,189;  $p = 0,261$ ). Вероятность выживания в разные периоды времени показала более низкую выживаемость в группе плацебо-Rd, которая варьировала от 36 до 60 мес.: 76,6% против 61,8% через 24 мес., 64,4% против 47,0% через 36 мес., 61,3% против 42,9% через 48 мес. и 52,0% против 38,7% через 60 мес. наблюдения за больными. Значительно более низкий риск смерти был выявлен при применении Ixa-Rd по сравнению с placebo-Rd в подгруппах пациентов с  $\geq 2$  предшествующими линиями терапии (HR = 0,465; 95%CI: 0,276-0,784), у больных, получавших ранее иммуномодуляторы (HR = 0,517; 95%CI: 0,283-0,944) и рефрактерных к талидомиду (HR = 0,3; 95%CI: 0,099-0,913). Кроме того, наблюдалась тенденция к снижению риска смерти при применении Ixa-Rd у пациентов старше 75 лет, с  $\geq 3$  предшествующими линиями терапии и рефрактерным заболеванием. Медиана PFS была существенно длительнее в группе Ixa-Rd, чем placebo-Rd (18,7 vs 10,2 мес., HR = 0,504; 95%CI: 0,300–0,847;  $p=0,008$ ). В большинстве выделенных подгрупп реже наблюдалась прогрессия заболевания при терапии Ixa-Rd, включая пациентов  $\leq 65$  лет, стадии ISS I или II, среди пациентов стандартного цитогенетического риска,

больных, получивших  $\geq 2$  предшествующих линий терапии, получавших ранее иммуномодуляторы и ингибиторы протеасомы. Все остальные подгруппы, за исключением пациентов, получивших 1 предшествующую линию терапии, продемонстрировали тенденцию к снижению риска прогрессирования заболевания в пользу группы Ixa-Rd.

Таким образом, анализ долгосрочных результатов после завершения исследования TOURMALINE-MM1, включивший пациентов из стран с формирующимся рынком, где новые агенты для ММ-терапии не были доступны на момент исследования, продемонстрировал тенденцию к существенному улучшению выживаемости при применении иксазомиба-Rd по сравнению с плацебо-Rd. Это, безусловно, контрастирует с основным исследованием, которое показало аналогичную медиану OS между двумя группами (53,6 против 51,6 мес.), которая, тем не менее, показывает клиническую пользу иксазомиба-Rd по сравнению с плацебо-Rd. Примечательно, что более низкая вероятность выживания в группе плацебо-Rd по сравнению с группой иксазомиб-Rd более отчетлива в период наблюдения от 36 до 60 мес., но эта тенденция не наблюдалась при длительных периодах наблюдения  $\geq 72$  мес. Изменчивость результатов может отражать, во-первых, небольшой размер выборки на  $\geq 72$  мес. и, во-вторых, потенциально увеличенный доступ к новым препаратам, которые к этому времени были уже одобрены.

Не вызывает сомнений польза от применения иксазомиба-Rd у пациентов с неблагоприятными прогностическими факторами, такими как  $\geq 2$  линий предшествующей терапии, предшествующее воздействие иммуномодуляторов и рефрактерность к терапии талидомидом. Кроме того, наблюдалась тенденция к снижению риска смерти при применении иксазомиба по сравнению с плацебо у пациентов старше 75 лет с  $\geq 3$  предшествующими линиями терапии и низким соматическим статусом.

В заключении авторы отмечают, что в целом, пациенты с РРММ продемонстрировали клинически значимое преимущество в выживаемости при применении иксазомиба-Rd по сравнению с плацебо-Rd, без каких-либо новых сигналов токсичности. Схема Ixa-Rd – первая полностью оральная тройная комбинация, обладающая благоприятным профилем безопасности, что позволяет проводить длительную терапию.

Оценка данных безопасности в исследовании TOURMALINE-MM1 проводилась как в рамках первого, так и в рамках последующих анализов. Профиль безопасности при более длительном периоде наблюдения соответствовал профилю безопасности во время первого, более короткого периода наблюдения. Пациенты получили 18 и 16 циклов (медиана) Ixa-Rd и placebo-Rd соответственно. Общие профили безопасности и показатели тяжелой токсичности ( $\geq 3$  степени), имеющие клиническое значение, указывали

на отсутствие новых или дополнительных проблем безопасности в течение 7-летнего периода наблюдения. Чаще в группе иксазомиба были лишь гастроинтестинальные жалобы (тошнота, рвота, диарея и запоры), кожная сыпь и тромбоцитопения. При объединенных периодах наблюдения частота развития тромбоцитопении  $\geq 3$  степени составила 21,3% против 10,3%, диареи – 10,0% против 3,1%. Однако только эти два осложнения наблюдались с более высокой частотой в группе Ixa-Rd по сравнению с placebo-Rd. Досрочное прекращение терапии по причине НЯ наблюдалось у 17% больных, находящихся на терапии Ixa-Rd, т.е. 83% больных продолжали принимать стартовую дозировку иксазомиба до конца исследования. Показатель новых первичных злокачественных новообразований составил 10,3% и 11,9% в группах Ixa-Rd и placebo-Rd соответственно.

При оценке качества жизни с использованием вопросника EORTC или QoL отмечено улучшение. Не было никаких очевидных различий качества жизни между группами в ходе лечения (Ixa-Rd – 49,2% против placebo-Rd – 52,2%). При периоде наблюдения за больными 23 мес. профиль безопасности режима IxaRd по сравнению с placebo-Rd был сходным у пациентов как с высоким, так и со стандартным риском.

Результаты ключевых клинических исследований, в первую очередь результаты международного, многоцентрового, рандомизированного, двойного слепого, плацебо-контролируемого исследования III фазы TOURMALINE-MM1, привели к одобрению Европейскими и Российскими регулирующими органами триплета иксазомиб+леналидомид+дексаметазон (Ixa-Rd) для лечения пациентов с ММ, которые получили как минимум одну линию предшествующей терапии [6,23-25]. Комбинация рекомендована и экспертами NCCN [26] (таблица 1).

Среди других рекомендуемых схем эксперты NCCN обращают внимание на пероральный триплет иксазомиб/циклофосфамид/дексаметазон. Этот режим был оценен в исследовании фазы II, в котором участвовали больные ММ с рецидивами и рефрактерностью к предшествующей терапии. Обнаружено, что он хорошо переносится. При медиане наблюдения в 15,2 месяца медиана PFS составила 14,2 месяца. Наилучшие результаты зарегистрированы у пациентов в возрасте 65 лет и старше по сравнению с пациентами моложе 65 лет (mPFS 18,7 мес. против 12,0 мес.; HR = 0,62, P = 0,14) [27]. Группа NCCN включила этот пероральный режим в список «других рекомендуемых схем» для рецидивирующих/рефрактерных форм ММ (таблица 1).

Множественная миелома является второй по распространенности гематологической злокачественной опухолью, которая чаще встречается у пожилых людей, при этом почти треть пациентов в возрасте 75 лет на момент постановки диагноза. Между тем, большинство клинических исследований не вклю-



чали значительную долю пожилых пациентов, чтобы обеспечить сравнение лечения по возрасту [28]. Пожилой возраст часто связан с недостаточностью функции органов, что может снизить переносимость и повлиять на результаты терапии. Однако строгие

критерии приемлемости в рандомизированных клинических испытаниях (РКИ) исключали пациентов с сопутствующими заболеваниями, такими как нарушения функции почек и сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), ограничивая обобщаемость РКИ.

Таблица 1

**Рекомендации по лечению рецидивов множественной миеломы  
(NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Multiple Myeloma.  
Version 4.2022 — December 14, 2021)**

ТЕРАПИЯ РАННЕ ЛЕЧЕННОЙ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ	
Примечание. Если схема, указанная для ранее леченной множественной миеломы, использовалась в качестве первичной индукционной терапии, а длительность ремиссии до рецидива >6 месяцев, тот же режим может быть повторен.	
Предпочтительные схемы для ранних рецидивов (1–3 предшествующих линий терапии) Порядок схем не свидетельствует о сравнительной эффективности	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bortezomib/lenalidomide/dexamethasone</li> <li>• Carfilzomib/lenalidomide/dexamethasone (категория 1)</li> <li>• Daratumumab/bortezomib/dexamethasone (категория 1)</li> <li>• Daratumumab/carfilzomib/dexamethasone (категория 1)</li> <li>• Daratumumab/lenalidomide/dexamethasone (категория 1)</li> <li>• Ixazomib/lenalidomide/dexamethasone (категория 1)</li> <li>• Isatuximab-irfc/carfilzomib/dexamethasone (категория 1)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• После двух предшествующих линий терапии, включая IMiD и PI, а также при заболевании прогрессирующей в течение 60 дней после завершения последней терапии                         <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Ixazomib/pomalidomide/dexamethasone</li> <li>■ Pomalidomide/bortezomib/dexamethasone (категория 1)</li> </ul> </li> <li>1. После двух предшествующих линий терапии, включая леналидомид и PI                         <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Isatuximab-irfc/pomalidomide/dexamethasone (категория 1)</li> <li>■ Daratumumab/pomalidomide/dexamethasone (категория 1)</li> </ul> </li> </ul>
Другие рекомендуемые схемы для ранних рецидивов (1-3 предыдущих терапии)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bendamustine/bortezomib/dexamethasone</li> <li>• Bendamustine/lenalidomide/dexamethasone</li> <li>• Bortezomib/liposomal doxorubicin/dexamethasone (категория 1)</li> <li>• Bortezomib/cyclophosphamide/dexamethasone</li> <li>• Carfilzomib/cyclophosphamide/dexamethasone</li> <li>• Carfilzomib (twice weekly)/dexamethasone (категория 1)</li> <li>• Cyclophosphamide/lenalidomide/dexamethasone</li> <li>• Daratumumab/cyclophosphamide/bortezomib/dexamethasone</li> <li>• Elotuzumab/bortezomib/dexamethasone</li> <li>• Elotuzumab/lenalidomide/dexamethasone (категория 1)</li> <li>• Ixazomib/cyclophosphamide/dexamethasone</li> <li>• Selinexor/bortezomib/dexamethasone (еженедельно) (категория 1)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• После двух предшествующих линий терапий, включая IMiD и PI, а также при заболевании прогрессирующей в течение 60 дней после завершения последней терапии                         <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Pomalidomide/carfilzomib/dexamethasone</li> <li>■ Pomalidomide/cyclophosphamide/dexamethasone</li> </ul> </li> <li>• После двух предшествующих линий терапии, включая леналидомид и PI                         <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Elotuzumab/pomalidomide/dexamethasone</li> </ul> </li> </ul>

Примечание. IMiD – иммуномодулирующие агенты, PI – ингибиторы протеасомы

Почечная недостаточность является распространенным осложнением ММ и одним из неблагоприятных прогностических факторов, с частотой от 20% до 50% при постановке диагноза и до 60% при первом рецидиве [29]. Заболеваемость ССЗ выше у пациентов с ММ, при этом у 52%, ранее пролеченных пациентов, наблюдаются ССЗ по сравнению с 35% контролем ( $p < 0,0001$ ) [30].

Существует быстро растущее число активных вариантов лечения, доступных для лечения пациентов с рецидивирующей и/или рефрактерной множественной миеломой (РММ) [6,31]. В то же время недопредставленность пожилых пациентов и пациентов с распространенными сопутствующими заболеваниями и пониженным соматическим статусом в

РКИ может привести к заметным пробелам в реальной клинической практике [7]. Например, данные, полученные из реестра CONNЕСТ ММ, свидетельствуют о том, что примерно 40% реальных пациентов не будут иметь права на участие в клинических испытаниях III фазы на основе стандартного включения/критерии исключения и, в частности, у этих пациентов была значительно более низкая 3-летняя выживаемость по сравнению с пациентами, которые имели бы право на участие в клинических испытаниях (63% против 70%,  $P = 0,0392$ ) [32]. Однако среди различных исследовательских групп растет понимание того, что «реальная» популяция пациентов с РММ в сообществе не полностью представлена популяциями пациентов, включенных в клиниче-

ские исследования III фазы [33,34], и что “разрыв” между клиническими испытаниями и условиями реального мира может привести к различным результатам [7]. Учитывая эти результаты, врачам важно понимать различия между популяциями, участвующими в реальных и клинических испытаниях, и то, как они могут повлиять на перевод результатов клинических испытаний в их реальную практику. Таким образом, данные о схемах лечения РРММ в реальных условиях представляют собой важный компонент принятия терапевтических решений в этой среде.

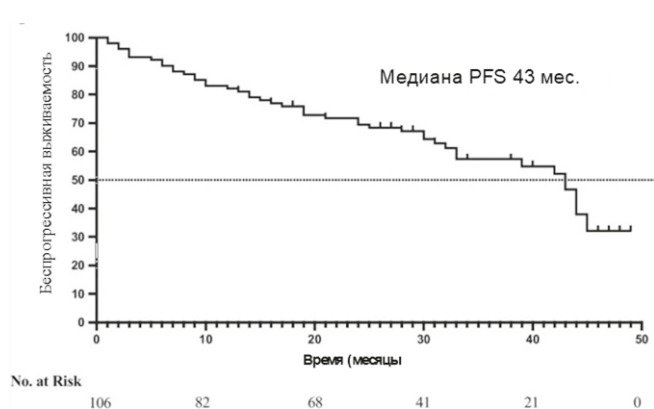
В этой связи мы хотим обратить внимание на результаты исследования Sokol J. et al., целью которого была оценка эффективности и безопасности триплета Ixa-Rd (иксазомиб+леналидомид+дексаметазон) в реальной клинической практике [35]. В этом когортном исследовании были проанализированы результаты 106 пациентов с рецидивом или рецидивами/рефрактерными формами ММ (РРММ), получавших Ixa-Rd в сопоставлении с исследованием TOURMALINE-MM1. Медиана возраста больных на момент постановки диагноза составила 63 года (диапазон 44-78), из них 55 (52%) были мужчинами. Медиана числа линий предшествующей терапии составляла 2 (диапазон 1-7) по сравнению с 1 линией в исследовании TOURMALINE-MM1. Большинство пациентов в обеих исследуемых популяциях имели рецидив заболевания: 79,2% в настоящем исследовании и 77% в исследовании TOURMALINE-MM1. Основная часть пациентов имела высокий риск по шкале ISS: 18 (17%), 29 (27%) и 59 (56%) соответственно ISS I, ISS II и ISS III, в то время как в исследовании

TOURMALINE-MM1 число больных с ISS III равнялось 12%. По сравнению с исследованием TOURMALINE-MM1, пациенты в этом исследовании были моложе, с продвинутой стадией по ISS, с большим числом линий предшествующей терапии, и почти все пациенты ранее получали бортезомиб. Медиана времени от момента постановки диагноза ММ была короче (28,5 против 44,2 месяца). Это означает, что пациенты в данном когортном исследовании находились на лечении иксазомибом более короткий промежуток времени.

Пациенты получали 28-дневные циклы терапии Ixa-Rd: 4 мг перорального иксазомиба в день 1, 8 и 15-й; 25 мг леналидомида с 1 по 21-й дни цикла (10 мг для пациентов с креатинином  $\leq 60$  или  $\leq 50$  мл в минуту на  $1,73 \text{ м}^2$ ) и 40 мг дексаметазона в день 1, 8, 15, и 22-й. Оценка результатов терапии Ixa-Rd проводилась в двух словацких университетских клиниках (Martin University Hospital and Kosice University Hospital). Ixa-Rd был доступен для пациентов с РРММ в рамках программы раннего доступа с июня 2016 по декабрь 2018. Терапия продолжалась до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности или смерти. Обязательной была тромبوпрофилактика.

После 29 месяцев наблюдения 41,5% пациентов все еще продолжали лечение, mPFS составила 43 мес. (95%CI: 35,6-50,4), то есть почти вдвое больше, чем в исследовании TOURMALINE-MM1 (рис 7.). Был проведен анализ PFS по подгруппам с учетом возраста, стадий ISS, числа линий предшествующей терапии, цитогенетического риска и ответа на лечение.

Результаты: ВБП в общей когорте пациентов

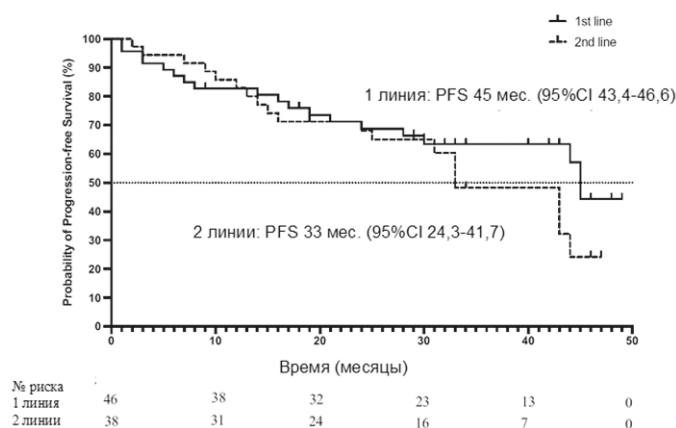


Sokol J, et al. *Ann Hematol.* 2021. doi:10.1007/s00277-021-04663-0.

Рисунок 7. Выживаемость без прогрессии в группе больных, получавших Ixa-Rd в реальной клинической практике

Наблюдалась тенденция к более длительной выживаемости без прогрессии у молодых пациентов в сравнении с пожилыми пациентами ( $\leq 65$  лет: 43 мес. [95%CI: 25,7/52,3] против  $>75$  лет: 13 мес. [95%CI: 0,0–28,0]); у пациентов с ISS I по сравнению с продвинутым стадиями MM (ISS I: не достигнута против ISS II+ISS III:

42 мес. [95%CI: 34,0–50,0]); у пациентов, которые получили меньшее количество предшествующих линий терапии (1 линия: 45 мес. [95%CI: 43,4–46,6] против 2-х линий: 33 месяца [95%CI: 24,3–41,7]) (Рис. 8.); у пациентов с лучшим ответом на терапию (ПО: не достигнут против стабилизации: 7 мес. [95%CI: 25,0–41,3]).



Sokol J, et al. Ann Hematol. 2021. doi:10.1007/s00277-021-04663-0.

Рисунок 8. Беспрогрессивная выживаемость больных MM в зависимости от количества линий предшествующей терапии

Обращала на себя внимание совершенно иная ситуация среди пациентов стандартного и высокого цитогенетического риска. Медиана PFS у пациентов со стандартным риском составила 39 месяцев (95% CI: 25,8–52,2), а при высоком риске 31 мес. (95%CI: 29,0–

33,0), то есть существенных различий не обнаружено (рис. 9). Наблюдалась тенденция к росту PFS при стандартном риске по сравнению с группой высокого риска. Возможно, это было связано с отсутствием цитогенетического исследования более чем у половины пациентов.

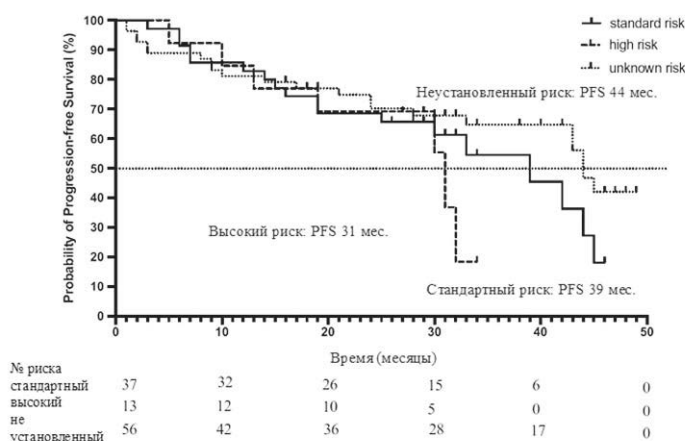


Рисунок 9. Беспрогрессивная выживаемость больных MM, получавших Ixa-Rd, в зависимости от группы цитогенетического риска

Примечание. standart risk – стандартный риск, high risk – высокий риск, unknown risk – не установленный риск

Медиана общей выживаемости не достигнута. Общий уровень ответа составил 74,5%. Полный ответ (ПО) получен у 8 (7,5%), охЧО – у 41 (38,7%),

ЧО – у 30 (28,3%), стабилизация – у 19 (18%) и прогрессия – у 8 (7,5%) пациентов. В целом достижение более глубокого ответа статистически значимо свя-

зано с меньшим количеством предыдущих линий терапии. Пациенты, которые получили только одну предыдущую линию лечения, достигли 13,1% ПО, 80,4% охЧО или ЧО. У пациентов, получивших более двух линий предшествующей терапии, частота охЧО или ЧО составила 27,3%, стабилизация – 50% и прогрессия наблюдалась у 22,7% больных. Ни один из этих пациентов не достиг полного ответа.

По данным 29-месячного анализа, самими частыми негематологическими побочными эффектами были: слабость, инфекции, боли в костях, диарея, кожная сыпь и бессонница. Профили безопасности при 29-месячном анализе обобщены в таблице 2. Ме-

диана циклов терапии составила 21 (диапазон 1-38). Режим исследования прекращен у 62 (58,5%) пациентов. Основными причинами стоп терапии были рецидив ММ (48,1%) и прогрессирование заболевания (7,5%) пациентов. Из-за НЯ лечение прекратили 3 (3%) пациента (1 диарея, 1 боль в костях, 1 сепсис и смерть). Достаточно часто наблюдалось снижение уровня гемоглобина, нейтрофилов и тромбоцитов. Нейтропения 3–5 степени зарегистрирована у 48,1%, анемия у 26,4%, тромбоцитопения у 19,8% больных. Однако чаще всего все НЯ можно было отнести к 1-2 ст. тяжести. Поэтому в целом терапия триплетом Ixa-Rd переносилась удовлетворительно.

Таблица 2

**Нежелательные явления,  
наблюдаемые в группе больных, получавших Ixa-Rd**

	1–2 ст.	3 ст.	4 ст.	5 ст.
<b>Гематологические, n (%)</b>				
Нейтропения	45 (42,4)	40 (37,7)	11 (10,3)	0
Анемия	31 (29,2)	28 (26,4)	0	0
Тромбоцитопения	25 (23,6)	21 (19,8)	0	0
<b>Негематологические, n (%)</b>				
Слабость	60 (56,6)	4 (3,8)	0	0
Инфекции	52 (49,1)	9 (8,5)	0	1 (0,9)
Боли в костях	46 (43,4)	1 (0,9)	0	0
Диарея	31 (29,4)	4 (3,8)	0	0
Кожная сыпь	14 (13,2)	0	0	0
Бессонница	11 (10,4)	0	0	0
Аритмия	3 (2,8)	0	0	0
Тромбоэмболии	0	0	0	0
Периферическая нейропатия	0	0	0	0

Таким образом, в представленном исследовании больные ММ с рецидивом/рефрактерностью получили Ixa-Rd в реальной клинической практике. Длительность наблюдения в этом исследовании была на 6 месяцев дольше, чем в TOURMALINE-MM1, изученная популяция моложе, но с более продвинутыми стадиями ММ по ISS, с большим числом линий предшествующей терапии, и почти все пациенты ранее получали бортезомиб в отличие от исследования TOURMALINE-MM1. Тем не менее, mPFS в два раза превысила таковую в исследовании TOURMALINE-MM1 (43,0 против 20,3 месяца). По мнению авторов, это улучшение было связано с тем, что пациенты, вошедшие в исследование, имели менее длительный анамнез, чем пациенты в TOURMALINE-MM1 (28,5 против 44,2 месяцев) [19]. Это предположение также подтверждается тем, что пациенты, получившие меньше линий лечения, достигали более глубоких ответов и более длительной беспрогрессивной выживаемости. По результатам исследований Sokol

J. et al. [35] не выявлено преимуществ в отношении PFS у пациентов с цитогенетическими аномалиями высокого риска. Однако это преимущество наблюдалось в исследовании TOURMALINE-MM1. Вероятно, это связано с тем, что более половины пациентов, в реальной клинической практике, не имели генетического теста. Лечение по схеме Ixa-Rd переносилось вполне удовлетворительно. Выявленные нежелательные побочные явления были в основном 1-2 ст. тяжести. Режим Ixa-Rd оказался безопасным и эффективным вариантом лечения для реальных пациентов с РРММ.

Привлекает внимание еще одно исследование, целью которого была оценка результатов лечения пациентов с РРММ в реальных условиях комбинацией на основе иксазомиба [36]. Исследование также имело ретроспективный характер, проведено в период с июня 2013 года по июнь 2018 года и включало 8 медицинских центров Израиля. Данные для оценки результатов исследования были извле-

ченны из медицинских карт, собирались в электронную базу и размещались в Tel Aviv Sourasky Medical Center. В общей сложности в исследование вошло 78 больных ММ с рецидивом/рефрактерностью, разного пола. Медиана возраста составила 68 лет (диапазон 38-90), медиана наблюдения – 22 мес. (диапазон 1-39) и 55 мес. с момента постановки диагноза. Среди 60 пациентов с доступными результатами FISH, 48% имели критерии среднего/высокого риска; у 71% установлена ISS II/III. У 63% выявлены костные деструкции, у 50% – анемия, а 26% пациентов имели почечную недостаточность при постановке диагноза. Болезнь была оценена как «клинически агрессивная» у 37% пациентов. 64% больных получили иксазомиб во 2-й линии терапии, 19% – в 3-й линии. Большинство больных (87%) ранее получали бортезомиб-содержащие режимы терапии, 41% – иммуномодуляторы (леналидомид, талидомид). 35% больных рецидивировали после выполненной ранее аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (АутоТГСК). У двадцати девяти (48% из 60 доступных) больных выявлены хромосомные aberrации высокого риска t(4:14), t(14:16), del17p или (+1q21). Большинство пациентов (82%) получали иксазомиб в сочетании с леналидомидом и дексаметазоном. Лечение в целом было хорошо переносимым; 70% имели одно нежелательное событие, связанное с иксазомибом, а в 31% случаев зарегистрированы НЯ 3-4 ст. В основном наблюдалась гематологическая и желудочно-кишечная токсичность. Не было смертей, связанных с иксазомибом; у 31% больных потребовалось снижение дозы, а 11% прекратили прием препаратов из-за токсичности.

Частота общего ответа (ЧОО) на комбинацию на основе иксазомиба составила 88%, 45% пациентов достигли охЧО или выше. Не выявлено существенной разницы в зависимости от числа линий предшествующей терапии, при этом ЧОО при назначении иксазомиба во 2-й, 3-й и > 3-й линиях достигла 85%, 100% и 82% соответственно. Медиана PFS составила 77% и 47% за 12 и 24 мес. соответственно. Медиана OS не была достигнута и составила 91% и 80% на 12 и 24 мес. соответственно. Высокая активность ЛДГ, пожилой возраст (> 65 лет) и клиническая агрессивность болезни были связаны с худшим значением PFS, в то время как более глубокий ответ на иксазомиб ( $\geq$  охЧО) и большая длительность ответа на бортезомиб в первой линии ( $\geq$  24 мес.) были связаны с улучшением PFS. Не было обнаружено никакого влияния на PFS цитогенетического риска (FISH, ISS/R-ISS), признаков CRAB синдрома, предшествующей противоопухолевой терапии и АутоТГСК.

Таким образом, это второе исследование режима Ixa-Rd, подтвердившее его эффективность и безопасность у пациентов с РРММ в реальных условиях, сопоставимых с данными клинических испытаний. Причем этот режим имел наиболее благоприятные

результаты среди пациентов, которые оставались без прогрессирования более чем через 24 мес. после индукционной терапии бортезомибом.

Такие оптимистичные результаты подтверждаются сообщениями нескольких других исследовательских групп. Так, были представлены данные реальной клинической практики о результатах лечения 163 пациентов из 9 стран [37], основанных на данных из чешского регистра моноклональной гаммапатии и INSIGHT [38]. В анализ были включены больные ММ с медианой возраста 67 лет; 50% получили иксазомиб в качестве 3 линии терапии. ЧОО составила 74% для всей когорты и 91% для пациентов, получивших иксазомиб во 2-й линии (n = 82). Медиана PFS составила 20,9 мес. и не была достигнута для когорты второй линии. По сводным данным греческих, чешских и американских баз данных, mPFS пациентов, получавших Ixa-Rd, и с числом линий предшествующей терапии равным 1,5, составила 27,6 мес., ЧОО – 68,5% для всей когорты и 76,6% для пациентов 2-й линии [39]. Опубликованы также результаты реальной клинической практики венгерской когорты больных с рецидивом/рефрактерными формами ММ, получавших Ixa-Rd [40]. Авторы сообщили о медиане PFS равной 11,4 мес. Выявлена тенденция к более длительному выживанию без прогрессирования у пациентов, получивших 1 линию терапии против >1, с одинаково хорошей эффективностью в группах стандартного и высокого риска.

Таким образом, полная пероральная комбинированная терапия по протоколу иксазомиб+леналидомид+дексаметазон у пациентов с рецидивами/рефрактерными формами ММ открыла новую эру в лечении этого заболевания.

Одним из ключевых вопросов является продолжительность терапии. Важность непрерывного лечения миеломы была обоснована обширным анализом из реальной клинической практики [41]. Во-первых, установлено, что прекращение приема терапии из-за НЯ коррелирует с повышенным риском смерти в течение первых 6 месяцев жизни; во-вторых, продолжительность терапии второй линии напрямую связана с улучшением 1-летней общей выживаемости пациентов с РРММ. Причем больше пользы от долгосрочной терапии второй линии получали как молодые, так и пожилые пациенты. Авторы указывают на необходимость устранения любых барьеров для удержания пациентов на терапии до прогрессирования заболевания. Режим на основе иксазомиба может быть особенно привлекательным для пациентов, которые остаются без прогрессирования в течение 24 мес. и более после индукционной терапии схемами, содержащими бортезомиб, и для тех, у кого более индолентный вариант заболевания. В этих условиях удобство полностью орального тройного режима Ixa-Rd при рецидивах ММ не вызывает сомнений.

Лечение пациентов с рецидивирующей и рефрактерной множественной миеломой, получивших две или более предшествующих линий терапии, становится особенно сложным. Нередко наблюдается развитие невосприимчивости, в первую очередь, к ингибитору протеасомы бортезомибу и иммуномодулирующему препарату леналидомиду. Леналидомид часто используется как в первой, так и во второй линии терапии и, нередко, с развитием к нему резистентности. Для таких пациентов рекомендуются чаще являются триплеты, включающие препараты с учетом чувствительности к леналидомиду [42]. Однако большинство препаратов, входящих в тройные комбинации, вводятся парентерально, увеличивая лечебную нагрузку на тяжело предлеченных больных, нередко ослабленных, с низким соматическим статусом (ECOG  $\geq$  2), что требует их госпитализации [6,43]. Больные ММ – чаще пациенты пожилого возраста, имеющие различные сопутствующие заболевания [1,44], и, поскольку пациенты уже нескольких лет получают различные циклы терапии, они, вероятно, будут ослабленными и потенциально менее способными переносить токсичность лечения [45,46], особенно при применении триплетов [47,48]. Поэтому при лечении таких больных существует необходимость в более удобных схемах, содержащих оральные препараты, которые активны, имеют управляемую токсичность, не оказывают негативного влияния на качество жизни и, зачастую, не требуют госпитализации.

Как уже указывалось выше, в последние годы лечебные протоколы множественной миеломы пополнились новыми препаратами, что привело в целом к улучшению результатов. Иксазомиб в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном прекрасно зарекомендовал себя при лечении первого рецидива, у больных, ранее получавших леналидомид или бортезомиб. Но пациенты, которые были рефрактерны к предшествующей терапии леналидомидом или ингибиторами протеасомы, были исключены из исследования TOURMALINE-MM1. Как оказалось, иммуномодулирующий препарат помалидомид является привлекательной альтернативой леналидомиду, обладая противоопухолевым и иммуностимулирующим эффектом при рецидивах/рефрактерности [42], в том числе у пациентов, рефрактерных к леналидомиду, что было продемонстрировано в исследовании MM-003 [49]. В этом исследовании, у больных различного возраста с рецидивом и рефрактерностью к предшествующей терапии (>2 линий), в том числе к бортезомибу и/или леналидомиду, сопоставлена эффективность двух режимов – помалидомид+низкие дозы дексаметазона (Pom+LoDEX) с высокодозовым дексаметазоном (HiDEX). Согласно данным исследования, при медиане наблюдения 10 мес. mPFS была существенно выше в группе больных, получавших Pom+LoDEX, чем HiDEX (4,0 мес. vs 1,9 мес.,  $p < 0,0001$ ), а медиана

OS – 12,7 и 8,1 мес. ( $p = 0,0285$ ) соответственно. Прогрессия наблюдалась в 10% и 27% случаев соответственно. Однако применение Pom+LoDEX сопряжено с развитием тяжелых НЯ. Так, гематологическая токсичность 3-4 ст. тяжести характеризовалась нейтропенией (48%), анемией (33%) и тромбоцитопенией (22%), а негематологическая, в первую очередь, включала пневмонию 3-4 ст. (13%) [49].

Выше уже были представлены результаты исследования II фазы по оценке эффективности и безопасности 2 дозовых режимов иксазомиба (4 мг и 5,5 мг) с 40 мг в неделю дексаметазона [16]. Установлено, что такое сочетание препаратов обладает хорошей эффективностью и переносимостью, а оптимальной дозой иксазомиба является 4 мг.

Dimopoulos M.A. et al. [50] провели и опубликовали результаты международного многоцентрового рандомизированного исследования II фазы, в котором сопоставили эффективность двух схем пероральной терапии: помалидомид+дексаметазон (pom-dex) и иксазомиб-дексаметазон (Ixa-dex). Пациенты были централизованно рандомизированы (3:2) с помощью технологии интерактивного опроса для получения либо Ixa-dex, либо pom-dex. В группе Ixa-dex назначали пероральный иксазомиб 4 мг в дни 1, 8 и 15 и пероральный дексаметазон 20 мг (10 мг у пациентов в возрасте  $\geq 75$  лет при рандомизации) в дни 1, 2, 8, 9, 15, 16, 22 и 23-й. Пациенты на pom-dex получали пероральный помалидомид 4 мг в дни 1-21 и пероральный дексаметазон 40 мг (20 мг у пациентов в возрасте  $\geq 75$  лет при рандомизации) в дни 1, 8, 15 и 22-й. Лечение в обеих группах до прогрессии или неприемлемой токсичности. Рандомизация была стратифицирована по возрасту (<65 против  $\geq 65$  лет), стадии заболевания по ISS (I или II против III) и количеству предыдущих линий терапии (2 против  $\geq 3$ ), получавших ранее или непереносимых леналидомид [50]. Группы больных были хорошо сбалансированы по основным характеристикам. Средний возраст у пациентов, получавших Ixa-dex или pom-dex, составил 72 против 68 лет (75% против 73% были в возрасте  $\geq 65$  лет и 36% против 18% были в возрасте  $\geq 75$  лет), 52% против 53% больных получили  $\geq 3$  предшествующих линий терапии (бортезомиб, леналидомид, даратумумаб, карфилзомиб).

Согласно полученным данным [50], медиана выживаемости без прогрессирования (mPFS) при Ixa-dex и pom-dex составила 7,1 против 4,8 мес. (HR = 0,847, 95%CI: 0,535-1,341,  $p = 0,477$ ; медиана наблюдения: 15,3 мес. против 17,3 мес.); статистически значимой разницы между группами не было. У пациентов с 2 и  $\geq 3$  предшествующими линиями терапии mPFS составил 11,0 против 5,7 мес. (HR = 1,083, 95%CI: 0,547-2,144) и 5,7 против 3,7 мес. (HR = 0,686, 95%CI: 0,368-1,279) в группах Ixa-dex pom-dex соответственно. Анализ PFS в возрастных группах с Ixa-dex против pom-dex показал, что у пациентов в

возрасте <75 лет mPFS составила 6,5 мес. против 4,8 мес. (HR = 0,843, 95%CI: 0,491-1,448), а ≥75 лет – 8,0 мес. против 4,7 мес. (HR = 0,890, 95%CI: 0,309-2,562). В целом 30 (42%) против 23 (49%) пациентов в группах Ixa-dex и rom-dex при прогрессии были переведены на последующие линии терапии. Среди пациентов с Ixa-dex и rom-dex 69% против 81% имели НЯ 3 степени, при этом серьезные НЯ наблюдались у 51% против 53%. У 39% против 36% больных, возникшие НЯ были причиной прекращения приема препарата, у 44% против 32% - снижения дозы. Наиболее часто в группах Ixa-dex vs rom-dex наблюдались (разница в показателях ≥10%) диарея (40% vs 28%), периферическая нейропатия (29% vs 6%), бессонница (22% vs 11%) и периферические отеки (14% vs 4%). Серьезными НЯ, возникшими у больных, получавших rom-dex или Ixa-dex, с более высокой частотой (≥10% разница в показателях) были нейтропения (45% vs 3%), анемия (38% vs 18%), зуд (11% vs 0), астения (17% vs 6%) и пирексия (15% vs 4%) соответственно. Пневмония реже встречалась при применении дуплета Ixa-dex, чем rom-dex (13% vs 21%). Качество жизни было одинаковым между группами и сохранялось во время лечения.

Таким образом, по мнению авторов, Ixa-dex представляет собой важный, не содержащий леналидомид, пероральный вариант терапии для пациентов с РРММ, получивших ранее 2 и более линии терапии, невосприимчивых к леналидомиду, подвергшихся воздействию ингибиторов протеасом. На фоне терапии Ixa-dex сохраняется вполне удовлетворительное качество жизни. Ixa-dex является подходящим вариантом для пожилых пациентов, пациентов, которые не могут переносить комбинации триплетов, или которые предпочитают пероральные лекарственные препараты, или которым требуется не иммуномодулирующий подход к медикаментозному лечению.

Еще одна двойная комбинация, на которую стоит обратить внимание, – иксазомиб+ антиCD38-моноклональное антитело даратумумаб (Ixa-Dara). Она была протестирована у пациентов с РРММ: иксазомиб перорально (4 мг дни 1, 8, 15-й), внутривенно даратумумаб (16 мг/кг дни 1, 8, 15, 22-й, циклы 1-2; дни 1, 15-й, циклы 3-6; день 1-й, циклы 7+) [51]. В исследование вошли больные после 1 или 2 предшествующих линий терапии. У пациентов был первый (n = 36) или второй рецидив (n = 19). Тридцать три пациента (60%) ранее получали бортезомиб, 37 (67%) – леналидомид и 20 (36%) были рефрактерны к леналидомиду. У семнадцати (36%) пациентов выявлен высокий цитогенетический риск, включая t(4;14) (n = 8) или del17p (n = 10). Сообщается о нежелательных явлениях ≥3 ст., возникших у 27 (49%) человек. Наиболее частыми проявлениями токсичности 3-4 степени были тромбоцитопения (n = 9), другие цитопении (n = 4), инфекции (n = 8), гипертония (n = 3) и желудочно-

кишечные расстройства (n = 3). Обращала на себя внимание высокая эффективность дуплета. Так, общая частота ответа, включая минимальный ответ, составила 86 % при частоте ≥охЧО равной 32%. Причем у пациентов, рефрактерных к леналидомиду, ЧОО была сопоставимой (82%), а число больных с ≥охЧО выросло до 41%. Аналогичные показатели обнаружены у пациентов с высоким цитогенетическим риском – 85% и 46% соответственно. Таким образом, дуплет Ixa-Dara является перспективной лечебной опцией, эффективной даже у пациентов с рефрактерностью к леналидомиду и высоким цитогенетическим риском. При медиане наблюдения 11,6 месяцев mPFS составила 16 мес., а медиана OS не достигнута (1-летняя 76%) [51].

Поскольку иксазомиб и дексаметазон (Ixa-dex) при рефрактерных формах ММ можно безопасно комбинировать с леналидомидом, было бы полезно повысить эффективность этого дуплета за счет добавления другого иммуномодулятора – помалидомида.

Этому посвящено открытое многоцентровое исследование фазы I/II, которое было разработано для оценки безопасности, переносимости и активности еженедельного перорального приема иксазомиба в сочетании с помалидомидом и дексаметазоном (Ixa-RomDex) у пациентов с рецидивом или рецидивирующей/рефрактерной ММ [52]. Для первой фазы были протестированы две дозы иксазомиба – 3 и 4 мг. Как для исследований I, так и II фазы пациенты получали иксазомиб в 1, 8 и 15-й дни 28-дневного цикла; кроме того, всем пациентам ежедневно давали помалидомид в дни 1-21 цикла и дексаметазон в дни 1, 8, 15 и 22-й. Помалидомид и дексаметазон назначались в дозах 4 и 40 мг соответственно, за исключением пациентов старше 75 лет, получавших 20 мг дексаметазона. Исследование проводилось по стандартной схеме 3 + 3, и решения об увеличении дозы принимались на основе ограничивающей дозу токсичности, возникающей в цикле 1. Максимально переносимая доза (МПД) определялась выявлением одной или нескольких токсических реакций, возможно, связанных с иксазомибом или помалидомидом: нейтропения 4-й степени или 3-й степени с лихорадкой ≥38,5°C, 4-я степень тромбоцитопении или 3-я степень с кровотечением, задержка начала 2-го цикла более чем на 7 дней из-за токсичности, связанной с лечением, и любое изменение дозы или задержка приема иксазомиба или помалидомида во время 1-го цикла. Кроме того, МПД включала любую негематологическую токсичность ≥3 степени, за исключением диареи, усталости, тошноты и рвоты, восстанавливающихся до <3 степени в течение 48 час, и аллергической реакции/гиперчувствительности или электролитной/метаболической токсичности, поддающихся коррекции до степени <1 в течение 48 часов. В исследовании участвовали пациенты с числом линий предшествующей тера-

пии от 1 до 5 (медиана 2), которые включали бортезомиб (100%) и карфилзомиб (19%). Все больные были рефрактерны к леналидомиду и две трети – к бортезомибу. При медиане наблюдения равной 12,0 мес. (диапазон 1,9–32,1), медиана количества полученных циклов составила 4,5 (диапазон 1–28). В общей сложности 48% пациентов достигли  $\geq$ ЧО, при этом 20% – охЧО (95%CI: 6,8–40,7) и у 76% больных установлена стабилизация или лучше (95%CI: 54,9–90,6). Медиана PFS составила 8,6 месяцев (95%CI: 1,8 – не достигнута); 1-летняя OS – 82% (95%CI: 59–93), а медиана OS не была достигнута. Нежелательные события любой степени, которые считались связанными с лечением, были зарегистрированы у 97% пациентов независимо от дозы. Смертей, связанных с лечением, не было. Нежелательные явления 3 или 4 степени, возможно, связанные с комбинацией препаратов, наблюдались у 74% пациентов. Наиболее распространенными НЯ 2-й степени или выше были анемия, нейтропения, тромбоцитопения и инфекции. Отмечен один случай лизиса опухоли 3 степени, который разрешился в течение 48 час. Периферическая нейропатия, связанная с лечением, наблюдалась нечасто: у трех пациентов была периферическая сенсорная нейропатия при назначении 3 мг иксазомиба (у всех 1-я степень); у 7 пациентов при использовании 4 мг иксазомиба (у пяти – 1-я степень и у двух – 2-я степень). В ходе исследования умерло десять пациентов; наиболее частой причиной смерти было прогрессирование заболевания (9), за которым следовала гипертоническая болезнь, не связанная с лечением (1). Основываясь на многообещающей эффективности и контролируемой токсичности, возникающих в результате применения схемы иксазомиб-помалидомид-дексаметазон у пациентов с леналидомид-резистентностью, авторы считают, что полученные результаты оправдывают применение этой комбинации у пациентов с рецидивом миеломы, которые рефрактерны к леналидомиду. Полностью пероральный характер этого режима позволил обеспечить устойчивый прирост эффективности во время пандемии COVID-19 [52].

В другом исследовании фазы I/II изучалась безопасность и эффективность иксазомиба/помалидомида/дексаметазона у пациентов, которые имели несколько предыдущих линий лечения, были рефрактерны только к леналидомиду или рефрактерны к леналидомиду и бортезомибу, или леналидомиду, бортезомибу и карфилзомибу. Частота общего ответа составила 33% и 40% при различных дозировках иксазомиба [53].

Учитывая многообещающие результаты ответа, особенно у пациентов, рефрактерных как к леналидомиду, так и к ингибиторам протеасомы, группа NCCN включила иксазомиб/помалидомид/дексаметазон в качестве варианта лечения для пациентов с рецидивирующим/рефрактерным течением ММ,

которые получили по крайней мере две предыдущие линии терапии, включая иммуномодуляторы и ингибиторы протеасомы, и продемонстрировали прогрессирование заболевания через или в течение 60 дней после завершения последней линии терапии (таблица 1).

Другие комбинации, в частности на основе моноклональных антител, хорошо зарекомендовали себя при рецидивах/рефрактерных формах ММ [6]. Так, 3-компонентный режим, включающий даратумумаб (Dara), помалидомид (ПОМ) и дексаметазон (dex) (DPd) продемонстрировал достижение глубоких и длительных ответов, включая отсутствие минимальной остаточной болезни (МОБ-негативность), у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной ММ. Однако, как показали последующие исследования, четырехкомпонентные схемы лечения могут существенно повысить результативность терапии этой категории больных. Недавно Kumar A.D. et al. сообщили о многоцентровом исследовании фазы II, в котором изучалась эффективность квадриплета (DIPd: даратумумаб+иксазомиб+помалидомид+дексаметазон) у пациентов с ранним рецидивом ММ [54]. Основной целью исследования был оценка общего ответа и безопасности квадриплета DIPd. Вторичные конечные точки включали выживаемость без прогрессирования (PFS), общую выживаемость (OS) и частоту МОБ-негативности. Пациенты, участвующие в исследовании, получили  $\geq$ 1 и  $\leq$ 3 предшествующих линий различной терапии (медиана 1), не содержащей даратумумаб (Dara) или иксазомиб. Не было больных, которые прогрессировали на помалидомиде (ПОМ). Все пациенты ранее получали, в том числе, леналидомид и у 47% выявлены цитогенетические особенности высокого риска. Первыми шести пациентам, участвовавшим в тестировании безопасности, был назначен даратумумаб 16 мг/кг внутривенно еженедельно по 8 доз, раз в две недели по 8 доз, затем ежемесячно; ПОМ по 4 мг перорально в дни 1–21 28-дневного цикла; иксазомиб по 4 мг перорально в дни 1, 8, 15 каждые 28 дней и дексаметазон 20–40 мг еженедельно. Наиболее частыми нежелательными явлениями 3–4 степени были нейтропения (78%), инфекция (30%), лейкопения (11%), респираторные заболевания (7%), психические расстройства (4%) и тромбоз (4%). При медиане длительности лечения равной 4 мес. (диапазон 1–29), ЧОО составила 84%. Лучшие ответы включали: 26% строгих ПО, 21% охЧО, 37% ЧО. После медианы наблюдения 12 мес. медиана OS составила 39 месяцев, а mPFS – 9,5 мес.

Авторы резюмируют: квадриплет DIPd – это хорошо сбалансированная и вполне удовлетворительно переносимая комбинация, которая показала высокую ЧОО при рецидиве миеломы, включая пациентов с генетическими аномалиями высокого риска.



### Заключение

Таким образом, подводя итог представленным данным и результатам многоцентровых рандомизированных клинических исследований, можно с уверенностью констатировать, что терапевтические стратегии при множественной миеломе за последние два десятилетия значительно продвинулись. Ингибиторы протеасомы действительно стали краеугольным камнем терапии ММ, и их использование в непрерывном режиме, до прогрессии ММ привело к улучшению долгосрочных результатов.

Иксазомиб – это первый оральный ингибитор протеасомы, одобренный международными регулирующими органами, в том числе в Российской Федерации, для применения в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном при лечении пациентов с ММ, получивших ранее как минимум одну линию предшествующей терапии. В исследовании III фазы TOURMALINE-MM1 триплет Ixa-Rd показал значительное преимущество по сравнению с дуплетом Rd во всех клинических ситуациях, включая пациентов высокого цитогенетического риска, получивших ранее ингибиторы протеасомы и/или иммуномодуляторы. Так, по результатам исследования TOURMALINE-MM1, у пациентов с рецидивирующей и рефрактерной множественной миеломой с цитогенетическими аномалиями высокого риска, получивших иксазомиб плюс леналидомид-дексаметазон (Ixa-Rd), выживаемость без прогрессирования была аналогична таковой при цитогенетическом стандартном риске и выше по сравнению с пациентами, получившими плацебо-Rd. То есть, добавление иксазомиба к дуплету Rd существенно снижает повышенный риск, создаваемый цитогенетическими аномалиями. Вряд ли мы можем утверждать, что иксазомиб преодолевает высокий риск. Однако врач, выявив цитогенетические аномалии, характерные для высокого риска, должен понять, каким образом он может помочь пациенту «усилить» факторы со знаком «плюс» и нивелировать факторы со знаком «минус». На наш взгляд, иксазомиб – это тот препарат, который поможет такому пациенту.

Данные клинических испытаний III фазы показали, что Ixa-Rd активен, а сетевые мета-анализы показывают, что Ixa-Rd является одним из наиболее активных, хотя и не самым активным, режимов лечения РРММ [6]. В этом контексте Ixa-Rd, элутузумаб-Rd и карфилзомиб-Rd, по-видимому, демонстрируют аналогичную относительную пользу для выживаемости без прогрессирования по сравнению только с Rd [6,8,26]. Однако результаты клинических испытаний не всегда воплощаются в реальные результаты [35,55]. Между тем, схема Ixa-Rd зарекомендовала себя как безопасный и эффективный вариант лечения для реальных пациентов с рецидивами/рефрактерными формами множественной миеломы. Более того медиана беспрогрессивной выживаемости, наблюдаемая в исследовании Sokol J. et al. [35],

в реальной практике была вдвое больше, чем в исследовании TOURMALINE-MM1. Возрастающее внимание к вопросу возможности проведения непрерывной терапии максимально длительное время, свидетельствует об особой значимости применения режимов терапии с приемлемыми профилями безопасности, позволяющих сохранить качество жизни пациентов и характеризующихся лёгкостью проведения. Длительная терапия становится эффективным способом увеличения времени до прогрессирования заболевания и выживаемости. В этой связи следует обратить внимание на продолжительность терапии при использовании комбинации с иксазомибом. Сегодня мы действительно имеем неопровержимые доказательства тому, что в реальных условиях Ixa-Rd может быть предпочтительным вариантом для длительного лечения, например, ослабленных пациентов, таких как те, у кого есть сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания, из-за сердечной токсичности, которая была связана с применением кардиотоксических препаратов. Иксазомиб в комбинации с Rd становится важным вариантом лечения пациентов с рецидивирующей и/или рефрактерной ММ независимо от группы риска, особенно для пациентов с высоким риском, требующих длительной, активной терапии, позволяющей контролировать заболевание.

Иксазомиб комбинируют с целым рядом других лекарственных препаратов (циклофосфамидом, даратумумабом, помалидомидом), причем его используют уже не только в тройных, но и четверных комбинациях. Все текущие исследования свидетельствуют о хорошей эффективности таких комбинаций, способных преодолеть рефрактерность, в том числе двойную рефрактерность. Например, в исследовании I/II фазы изучалась безопасность и эффективность тройной комбинации – иксазомиб/помалидомид/дексаметазон у пациентов, которые ранее получили 2 и более линии предшествующей терапии, были невосприимчивы не только к леналидомиду, но и бортезомибу, карфилзомибу. Триплет проявил многообещающую эффективность, особенно у пациентов, невосприимчивых как к леналидомиду, так и к ингибиторам протеасомы, что послужило основанием для включения экспертами NCCN схемы иксазомиб+помалидомид+дексаметазон в лечение пациентов с рецидивирующей/рефрактерной ММ, которые ранее получали по крайней мере две линии терапии, включая иммуномодулирующие агенты и ингибиторы протеасомы, и продемонстрировали прогрессирование заболевания через или в течение 60 дней после завершения последней терапии.

В любом случае, полностью пероральные иксазомиб-содержащие комбинации у пациентов с РРММ положили начало новой эре в лечении этого заболевания. Такие режимы являются эффективными и хорошо переносимыми вариантами лечения пациентов

с множественной миеломой. Они могут рассматриваться как предпочтительный вариант по сравнению со схемами, включающими парентерально вводимые агенты для пациентов, которым необходимо преодолевать большие расстояния, чтобы посетить клинику, для которых бремя повторных посещений для внутривенных/подкожных инъекций могут ограничить целесообразность длительной терапии

### Список литературы

1. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома: рук. для врачей. – М.: МК, 2016. – 504 с.
2. The Global Cancer Observatory. Globocan multiple myeloma fact-sheet. World Health Organization; Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2020. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/35-Multiple-myeloma-fact-sheet.pdf>.
3. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). / Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. Р. 250.
4. Бессмельцев С.С. Множественная миелома: диагностика и терапия (часть 1) // Вестник гематологии. – 2022. – №2. – С. 4-26.
5. Kumar S.K., Lee J.H., Lahuerta J.J. et al. Risk of progression and survival in multiple myeloma relapsing after therapy with IMiDs and bortezomib: a multicenter international myeloma working group study // *Leukemia*. – 2012. – Vol. 26. – P. 149-157.
6. Бессмельцев С.С. Множественная миелома: диагностика и терапия. (Часть 2) // Вестник гематологии. – 2022. – №3. – С. 4-31.
7. 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.
8. Leleu X., Martin T.G., Einsele H. et al. Role of proteasome inhibitors in relapsed and/or refractory multiple myeloma // *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. – 2019. – Vol. 19, N 1. – P. 9-22.
9. Gupta N., Zhao Y., Hui A.M. et al. Switching from body surface area-based to fixed dosing for the investigational proteasome inhibitor ixazomib: a population pharmacokinetic analysis // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2015b. – Vol. 79. – P. 789-800.
10. Gupta N., Hanley M.J., Harvey R.D. et al. A pharmacokinetics and safety phase 1/1b study of oral ixazomib in patients with multiple myeloma and severe renal impairment or end-stage renal disease requiring haemodialysis // *Br J Haematol*. – 2016. – Vol. 174, N 5. – P. 748-759.
11. Семочкин С.В. Иксазомиб в лечении рецидивирующей множественной миеломы. Медицинский Совет // 2018. - № 10. – С. 84-91.
12. Chauhan D., Tian Z., Zhou B. et al. In vitro and in vivo selective anti-tumor activity of a novel orally bioavailable proteasome inhibitor MLN9708 against multiple myeloma cells // *Clin Cancer Res*. – 2011. – Vol. 17, N 16. – 5311-5321.
13. Kumar S.K., Berdeja J.G., Niesvizky R. et al. Safety and tolerability of ixazomib, an oral proteasome inhibitor, in combination with lenalidomide and dexamethasone in patients with previously untreated multiple myeloma: an open-label phase 1/2 study // *Lancet Oncol*. – 2014. – Vol. 15. – 1503-1512.
14. Richardson P.G., Baz R., Wang M. et al. Phase 1 study of twice-weekly ixazomib, an oral proteasome inhibitor, in relapsed/refractory multiple myeloma patients // *Blood*. – 2014. – Vol. 124, N 7. – P. 1038-1046.
15. Kumar S.K., Bensinger W.I., Zimmerman T.M., Reeder C.B. et al. Phase 1 study of weekly dosing with the investigational oral proteasome inhibitor ixazomib in relapsed/refractory multiple myeloma // *Blood*. – 2014. – Vol. 124, N 7. – P. 1047-1055.
16. Kumar S.K., LaPlant B.R., Reeder C.B. et al. Randomized phase 2 trial of ixazomib and dexamethasone in relapsed multiple myeloma not refractory to bortezomib // *Blood*. – 2016. – Vol. 128, N 20. – P. 2415-2422.
17. Chauhan D., Tian Z., Zhou B. et al. In vitro and in vivo selective antitumor activity of a novel orally bioavailable proteasome inhibitor MLN9708 against multiple myeloma cells // *Clin Cancer Res*. – 2011. – Vol. 17. – P. 5311-5321.
18. Ohashi Y., Yatabe M., Nijjima D. et al. Safety and Effectiveness of Ixazomib Dose-escalating Strategy in Ixazomib-Lenalidomide-Dexamethasone Treatment for Relapsed/Refractory Multiple Myeloma // *In Vivo*. – 2020. – Vol. 34, N 5. – P. 2821-2828.
19. Moreau P., Masszi T., Grzasko N. et al. Oral ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma // *N Engl J Med*. – 2016. – Vol. 374. – P. 1621-1634.
20. 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, N 22. – P. 2430-2442.

21. Hou J., Jin J., Xu Y. et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study of ixazomib plus lenalidomide-dexamethasone in patients with relapsed/refractory multiple myeloma: China Continuation study // *J Hematol Oncol.* – 2017. – Vol. 10, N 1. – P. 137.
22. Spencer A., Samoiloova O., Wee-Joo Chng et al. Impact of ixazomib-lenalidomide-dexamethasone therapy on overall survival in multiple myeloma patients: Analysis of the emerging-markets subgroup of the TOURMALINE-MM1 trial // *eJHaem* (published by British Society for Haematology and John Wiley & Sons Ltd.). – 2022. – С. 1–11.
23. Менделеева Л.П., Вотякова О.М., Рехтина И.Г. Множественная миелома // *Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению злокачественных лимфопролиферативных заболеваний*; под ред. И.В. Поддубной, В.Г. Савченко. Москва, 2018. P. 213–241.
24. Клинические рекомендации. Множественная миелома. – 2020.
25. Dimopoulos M. A., P. Moreau P., Terpos E. et al. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // *Annals of Oncology.* – 2021. – Vol. 32, N 3. – P. 309-322.].
26. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Multiple Myeloma. Version 4.2022 – December 14, 2021
27. Kumar S.K., Grzasko N., Delimpasi S. et al. Phase 2 study of all-oral ixazomib, cyclophosphamide and low-dose dexamethasone for relapsed/refractory multiple myeloma // *Br J Haematol.* – 2019. – 184. – P. 536-546.
28. Larocca A., Palumbo A. Optimizing treatment for elderly patients with newly diagnosed multiple myeloma: a personalized approach // *J Clin Oncol.* – 2016. – Vol. 34. – P. 3600-3604.
29. Hari P., Romanus D., Luptakova K. et al. The impact of age and comorbidities on practice patterns and outcomes in patients with relapsed/refractory multiple myeloma in the era of novel therapies // *J Geriatr Oncol.* – 2018. – Vol. 2. - 138-144.
30. Chari A., Mezzi K., Zhu S. et al. Incidence and risk of hypertension in patients newly treated for multiple myeloma: a retrospective cohort study // *BMC Cancer.* – Vol. 2016. – Vol. 16. – P. 912.
31. Chim C.S., Kumar S.K., Orlowski R.Z. et al. Management of relapsed and refractory multiple myeloma: novel agents, antibodies, immunotherapies and beyond // *Leukemia.* – 2018. – Vol. 32, N 2. – P. 252–262.
32. Shah J.J., Abonour R., Gasparetto C. et al. Analysis of common eligibility criteria of randomized controlled trials in newly diagnosed multiple myeloma patients and extrapolating outcomes // *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* – 2017. – Vol. 17, N 9. – P. 575–583.
33. Jagannath S., Roy A., Kish J. et al. Real-world treatment patterns and associated progression-free survival in relapsed/refractory multiple myeloma among US community oncology practices // *Expert Rev Hematol.* – 2016. – Vol. 9, N 7. – P. 707–717.
34. Blimark C.H., Turesson I., Genell A. et al. Outcome and survival of myeloma patients diagnosed 2008-2015. Realworld data on 4904 patients from the Swedish myeloma registry // *Haematologica.* – 2018. – Vol. 103, N. 3. – P. 506–513.
35. 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>.
36. Cohen Y.C., Magen H., Lavi N. Ixazomib-based regimens for relapsed/refractory multiple myeloma: are real-world data compatible with clinical trial outcomes? A multi-site Israeli registry study // *Annals of Hematology.* <https://doi.org/10.1007/s00277-020-03985-9>.
37. Hajek R., Terpos E., Lee H.C. et al (2018) Ixazomib plus lenalidomide-dexamethasone (IRd) in relapsed/refractory multiple myeloma (MM) patients (Pts) – effectiveness in routine clinical practice is similar to the efficacy in the phase 3 tourmaline-MM1 trial: a pooled analysis from the insight MM // *O. Blood* [Internet] Vol. 132, Suppl 1. – 1971 LP-1971971: [http://www.bloodjournal.org/content/132/Suppl\\_1/1971](http://www.bloodjournal.org/content/132/Suppl_1/1971). Abstract.
38. Costello C., Davies F.E., Cook G. et al. INSIGHT MM: a large, global, prospective, non-interventional, real-world study of patients with multiple myeloma // *Future Oncol.* – 2019. – Vol. 15, N 13. – P. 1411–1428.
39. Terpos E., Maouche N., Minarik J. et al. Real world “data on the efficacy and safety of ixazomib in combination with lenalidomide and dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma: a combined study from the Greek, Czech and UK Databases // *Blood* [Internet]. – 2017. – Vol. 130, Suppl 1. – P. 3087.
40. Varga G., Nagy Z., Demeter J. et al. Real world efficacy and safety results of ixazomib lenalidomide and dexamethasone combination in relapsed/ refractory multiple myeloma: data collected from the Hungarian ixazomib named patient program // *Pathol Oncol.* – 2019. – Vol. 25, N 4. – P. 1615-1620.
41. Hari P., Romanus D., Palumbo A. et al. Prolonged duration of therapy is associated with improved survival in patients treated for relapsed/refractory multiple myeloma in routine clinical care in the United States // *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk* [Internet]. – 2018. – Vol. 18, N 2. – P. 152–160.

42. Бессмельцев С.С. Режимы на основе помалидомида и дексаметазона при лечении рефрактерной/ рецидивирующей множественной миеломы // Вестник гематологии. – 2022. – Т. XVIII, № 4. – С. 4-20.
43. Chari A., Romanus D., DasMahapatra P. et al. Patient- reported factors in treatment satisfaction in patients with relapsed/refractory multiple myeloma (RRMM) // *Oncologist*. – 2019. – Vol. 24. – P. 1479-1487.
44. Snowden J.A., Greenfield D.M., Bird J.M., Boland E. et al. Guidelines for screening and management of late and long-term consequences of myeloma and its treatment // *Br J Haematol*. – 2017. – Vol. 176. – P. 888-907.
45. Yong K., Delforge M., Driessen C. et al. Multiple myeloma: patient outcomes in real-world practice // *Br J Haematol*. – 2016. – Vol. 175. – P. 252-264.
46. Kumar S.K., Callander N.S., Adekola K. et al. Multiple Myeloma, Version 3.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology // *Natl Compr Canc Netw*. – 2020. – Vol. 18. – P. 1685-1717.
47. Dimopoulos M.A., Lonial S., White D. et al. Elotuzumab plus lenalidomide/dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma: ELOQUENT-2 follow-up and post-hoc analyses on progression-free survival and tumour growth. // *Br J Haematol*. – 2017. – Vol. 178. – P. 896-905.
48. Dimopoulos M.A., Oriol A., Nahi H. et al. Daratumumab, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma // *N Engl J Med*. – 2016. – Vol. 375. – P. 1319-1331.
49. San Miguel J., Weisel K., Moreau P. et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone versus high dose dexamethasone alone for patients with relapsed and refractory multiple myeloma (MM-003): a randomised, open-label, phase 3 trial // *Lancet Oncol*. – 2013. – Vol. 14. – P. 1055-1066.
50. Dimopoulos M.A., Schjesvold F., Doronin V. et al. Oral ixazomib-dexamethasone vs oral pomalidomide dexamethasone for lenalidomide-refractory, proteasome inhibitor-exposed multiple myeloma: a randomized Phase 2 trial // *Blood Cancer Journal*. – 2022. – Vol. 12, N 9. <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00593-2>.
51. Leleu X., Macro M., Touzeau C. et al. Ixazomib and daratumumab without dexamethasone (I-Dara) in elderly frail RRMM patients: A multicenter phase 2 study (IFM 2018-02) of the Intergroupe Francophone du Myelome (IFM) // *ASCO Annual Meeting*. – 2022. – Abstract 8000. 10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.8000.
52. Krishnan A., 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.
53. Krishnan A.Y., Kapoor P., Palmer J. et al. A phase I/II study of ixazomib (Ix) pomalidomide (POM) dexamethasone (DEX) in relapsed refractory (R/R) multiple myeloma: Initial results // *Journal of Clinical Oncology*. – 2016. – Vol. 34. – P. 8008.
54. Kumar A.D., Padilla M., Liu L. et al. Phase II study of the combination of daratumumab, ixazomib, pomalidomide, and dexamethasone as salvage therapy in relapsed/refractory multiple myeloma: Stage 2 interim results // *ASCO Annual Meeting*. – 2022. – Abstract 8041. 10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.8041.
55. Голенков А.К., Бессмельцев С.С. Концепция клинических исследований в гематологии, интегрированных в реальную клиническую практик у // Вестник гематологии. – 2020. – Т. XVI, №1. – С. 6-14.

Папаян Л.П., Головина О.Г., Матвиенко О.Ю., Силина Н.Н.

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

## НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ТРОМБОФИЛИИ (ЛЕКЦИЯ)

**Резюме:** Развитие эпизодов венозного тромбоза представляет значительную проблему в различных областях медицины и установление факторов риска развития тромбоза является актуальной задачей. Наследственная тромбофилия играет важную роль в патогенезе венозного тромбоза. Установлено, что наследственная тромбофилия носит полигенный характер, то есть обусловлена наличием генетических аномалий. Усиление функциональной активности белка определяют мутации G20210A в гене фактора II (протромбина) и G1691A в гене фактора V (фактор V Leiden). Мутации с потерей функциональной активности белка

характерны для естественных антикоагулянтов, к которым относятся антитромбин, протеины C и S. Таким образом, термин тромбофилия используется для обозначения наследственных (врожденных) дефектов в системе гемостаза, которые способствуют развитию состояния гиперкоагуляции и могут сопровождаться венозными тромбозными осложнениями.

**Ключевые слова:** наследственная тромбофилия, мутация G20210A в гене фактора II (протромбина), мутация G1691A в гене фактора V (фактор V Leiden), дефицит антитромбина, дефицит протеина C, дефицит протеина S.

*Papayan L.P., Golovina O.G., Matvienko O.U., Silina N.N.*

*Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint Petersburg*

## HEREDITARY THROMBOPHILIA

**Abstract:** The development of episodes of venous thromboembolism is a significant problem in various fields of medicine, and the identification of risk factors for the development of thrombosis is an important task. Hereditary thrombophilia plays an important role in the pathogenesis of venous thromboembolism. It was found that hereditary thrombophilia is polygenic and is caused by the presence of genetic abnormalities. The enhancement of the functional activity of the protein is determined by mutations G20210A in the factor II gene (prothrombin) and G1691A in the factor V gene (factor V Leiden). Mutations with loss of functional

activity of the protein are characteristic of natural anticoagulants, which include antithrombin, proteins C and S. Thus, thrombophilia is used to denote hereditary (congenital) defects in the hemostasis system that contribute to the development of hypercoagulation and may be accompanied by venous thromboembolic complications.

**Key words:** hereditary thrombophilia, G20210A mutation in the factor II gene (prothrombin), G1691A mutation in the factor V gene (factor V Leiden), antithrombin deficiency, protein C deficiency, protein S deficiency.

### Введение

За последние годы практические врачи все чаще сталкиваются с термином «тромбофилия». Нередко тромбофилия трактуется ими как заболевание, для которого характерна постоянная угроза тромбозных проявлений, в связи с чем пациент получает рекомендации о пожизненном применении антитромботических препаратов. Однако это далеко не так, поскольку тромбофилия – это не заболевание!

Согласно современному представлению, термин «тромбофилия» означает лишь предрасположенность к тромбозу вследствие генетических или приобретенных нарушений в системе гемостаза. Поскольку этиология тромбоза многофакторная, наличие тромбофилического дефекта следует рассматривать как один из многих факторов, определяющих тромбозный риск [1].

Термин «тромбофилия» был предложен в 1995 году Всемирной организацией здравоохранения и Международным обществом по тромбозу и гемостазу (ISTH) для обозначения состояний с необычной склонностью к тромбозам с ранним возрастным началом, отягощенным семейным анамнезом, степенью тяжести тромбоза непропорциональной известному причинному фактору и наличием рецидивов тромбоза (цит. по А.П. Моту 2015) [2].

Первоначально термин «тромбофилия» использовался исключительно для обозначения конкретных нарушений в системе гемостаза наследственного, генетически обусловленного, и/или приобретенного характера, предрасполагающих к развитию венозных тромбозных осложнений (ВТЭО) вследствие усиления генерации тромбина.

В настоящей статье мы обсудим лишь наследственные (врожденные) формы тромбофилии, не касаясь приобретенных, к которым относят антифосфолипидный синдром [3].

### **Наследственные (врожденные) формы тромбофилии**

Характерной особенностью наследственной тромбофилии (НТ) является наличие той или иной генетической мутации, которая влияет на количество и/или функцию белка системы гемостаза [4]. Мутации с потерей функциональной активности белка характерны для естественных антикоагулянтов (ЕА), к которым относятся антитромбин, протеин С и протеин S. Усиление функциональной активности белка определяют мутации G1691A в гене фактора V (фактор V Лейден) и G20210A в гене

фактора II (протромбина). Указанные формы врожденных тромбофилий наследуются как аутосомно-доминантный признак и передаются из поколения в поколение лицам обоего пола, что определяет их клиническую значимость.

В таблице 1 представлены данные о встречаемости основных форм наследственных тромбофилий в общей популяции лиц европеоидной расы и среди больных с венозными тромбозами, а также об относительном риске развития первого и повторных эпизодов венозного тромбоза (ВТ) при этих anomalies гемостаза [5]. Как видно из данных таблицы 1, распространенность указанных дефектов системы гемостаза у больных с тромбоэмболическими осложнениями (ТЭО) невысока, а в общей популяции – в десятки раз ниже.

**Таблица 1**

#### **Частота встречаемости (ЧВ) различных форм наследственных тромбофилий в здоровой популяции и при венозном тромбозе**

Форма НТ	ЧВ в общей популяции	ЧВ при ВТ	Относительный риск первого эпизода ВТ	Относительный риск рецидивирующего ВТ
Дефицит антитромбина	0,02-0,2 %	1,0 %	≈15	1,9-2,6
Дефицит протеина С	0,2-0,4 %	3,0 %	4,0-6,0	1,4-1,8
Дефицит протеина S	0,03-0,5 %	1,0-2,0 %	1,0-10,0	1,0-1,4
Мутация FV Leiden (гомозигота)	0,02 %	<2,0 %	≈10,0	0,5-2,6
«Двойная гетерозигота» по FV Leiden и мутации FII G20210A	<0,1 %	<2,0 %	≈10,0	0,6-1,9
Мутация FV Leiden (гетерозигота)	3,0-7,0 %	20,0 %	3,0-5,0	1,2-1,4
Мутация FII G20210A (гетерозигота)	0,7-4,0 %	6,0 %	2,0-3,0	0,7-1,4

*Примечание. Цитируется по [5]*

Наследственные формы тромбофилии с потерей функциональной активности естественных антикоагулянтов

Механизм действия естественных антикоагулянтов (ЕА), как известно, заключается в ингибировании определенных активированных форм факторов свертывания крови посредством их частичного протеолиза или ковалентного связывания.

Дефицит антитромбина – классическая форма наследственной тромбофилии, впервые обнаруженная в 1965 году Egeberg O. в семье с рецидивирующими эпизодами венозного тромбоза [6]. Указанная аномалия гемостаза стала первой из известных форм врожденной тромбофилии. Ее отличительной особенностью является высокая пенетрантность с тромбоэмболическими осложнениями, что подтверждается частым положительным семейным анамнезом у таких больных.

Антитромбин (АТ), плазменный гликопротеин, синтезируется в печени, главной его мишенью является тромбин, а также активированные формы фак-

торов Ха, IXa, XIa и XIIa. Снижение функциональной активности антитромбина способствует усилению генерации тромбина за счет увеличения в кровотоке активированных форм вышеупомянутых факторов коагуляции, участвующих в его образовании. Описано более чем 130 различных мутаций в гене АТ, которые определяют многообразие нарушений данного антикоагулянта. В зависимости от энзиматической активности и уровня антигена в плазме выделяют 2 основные формы дефицита АТ.

Тип I (приблизительно 80% всех случаев) – это количественный дефект, который характеризуется одновременным снижением функциональной активности и содержания белка АТ в плазме.

Тип II – качественный, функциональный дефект АТ. Характеризуется нормальным уровнем белка АТ со сниженной энзиматической активностью.

Другим не менее важным естественным антикоагулянтом является протеин С. Протеин С – витамин К-зависимый плазменный гликопротеин синтезируется в печени. Будучи связанным со своим эндо-

телиальным рецептором, протеин С активируется комплексом, состоящим из тромбина и тромбомодулина, с образованием активированного протеина С (АПС). АПС ингибирует генерацию тромбина, протеолитически инактивируя активированные формы факторов Va и VIIIa. АПС играет значимую роль в регуляции тромботического процесса в микроциркуляции, где особенно важен контакт между протеинами и эндотелием. Описано более чем 200 различных мутаций в гене протеина С, которые определяют многообразие нарушений данного антикоагулянта. Дефицит протеина С впервые описан Griffin J.H. et al. в 1981 году [7]. Как и дефицит АТ, дефицит протеина С подразделяется на 2 основных типа в зависимости от уровней функциональной активности и антигена.

Тип I, наиболее частый, характеризуется параллельным снижением уровня антигена в плазме и энзиматической активности протеина С.

Тип II встречается редко и характеризуется синтезом нормального количества функционально неполноценного протеина С.

Важным неэнзиматическим кофактором АПС служит еще один ЕА, протеин S, который также обладает самостоятельной антикоагулянтной активностью, не зависящей от протеина С. Протеин S, как и протеин С, витамин К-зависимый плазменный гликопротеин, синтезируется гепатоцитами, но он, кроме того, обнаружен в эндотелиальных клетках и тромбоцитах. Приблизительно 70% протеина S циркулирует в плазме в связанном состоянии с регуляторным белком комплемента. Оставшиеся 30% свободного (несвязанного) протеина S ответственны за его антикоагулянтное действие. Дефицит протеина S впервые описан Comp P.C. et al. в 1984 году [8]. Частота встречаемости указанных форм НТ среди больных с венозными тромбозами (ВТ) невелика, а в общей популяции в десятки раз ниже (таблица 1).

### **Наследственные формы тромбофилии с усилением функциональной активности белка коагуляции**

*Мутация G1691A в гене фактора V и феномен «устойчивости к активированному протеину С»*

В 1993 году группа ученых из города Лейден (Нидерланды) обнаружила, что у некоторых людей добавление к плазме крови активированного протеина С, естественного антикоагулянта, не приводит к обычному увеличению активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ) [9]. Такая особенность системы гемостаза получила название «устойчивости к активированному протеину С», или «АПС-резистентности». Исследования показали, что этот феномен является наиболее частой протромботической аномалией гемостаза и обнаруживается у 20% больных с венозными тромбозами. В подавляющем большинстве случаев данный фенотип обусловлен аминокислотной заменой Arg506Gln в факторе V, которая расположена в месте главного сайта

его специфического протеолиза под действием АПС. В результате этой замены активная форма фактора V становится устойчивой к АПС-опосредованной инактивации и сохраняет свои прокоагулянтные свойства в течение более длительного времени, по сравнению со своей нормальной изоформой. Данный вариант фактора V получил в литературе название «FV Leiden».

Среди лиц европеоидной расы от 3% до 7% населения являются носителями мутации 1691GA в гене фактора V (FV Leiden), тогда как у коренных жителей Америки, Азии и Африки она практически не встречается [10].

### **Мутация G20210A в гене фактора II (протромбина)**

В 1996 году Poort S.R. et al. при исследовании 28 семей с необычно высокой частотой ТЭО обнаружили мутацию G→A в позиции 20210 3'-нетранслируемой области гена фактора II, ассоциированную с высоким риском ТЭО [11]. Механизм патологического действия данной нуклеотидной замены связан с повышением уровня синтезируемого протромбина.

Доля носителей генетического варианта «FII 20210A» в различных европейских популяциях составляет от 0,7% до 4%, тогда как среди коренных жителей Америки, Азии и Африки этот аллель обнаруживается существенно реже. Среди лиц с венозными тромбозами носительство аллеля «FII 20210A» встречается с частотой 6% [10].

### **«Мультигенная» форма врожденной тромбофилии**

К началу XXI-го века стало очевидным, что наряду с вышеперечисленными аномалиями наследственная тромбофилия может быть обусловлена целым спектром протромботических нарушений других плазменных белков гемостаза. В эту группу внесли носительство полиморфизма ряда генов белков, участвующих в реакциях системы гемостаза: фибриногена, рецепторов тромбоцитов (GPIIb и др.), а также увеличение активности фактора VIII, сниженный уровень протеина Z. Однако молекулярные механизмы формирования протромботических сдвигов при этих формах до сих пор остаются неясными [12,13].

### **Риск тромбообразования у носителей наследственных тромбофилий**

Клинические наблюдения показали, что все формы наследственных тромбофилий оказывают различное влияние на относительный риск развития первого и повторного тромботического эпизода. Они увеличивают относительный риск развития первого эпизода тромбоза, в то время как риск рецидива значительно ниже (таблица 1) [14].

Риск тромбообразования зависит также и от характера генетического дефекта. Наибольшую склонность к ТЭО проявляют лица с нарушением синтеза естественных антикоагулянтов: АТ, протеинов С и S, у которых клинические признаки тромбо-

за отмечены в 50-60% наблюдений. Причем в 80% случаев тромбоз у них развивается в возрасте до 40 лет и чаще всего у больных с нарушением синтеза антитромбина.

У гетерозигот с наследственным дефицитом антитромбина риск тромбообразования прогрессивно возрастает при снижении активности АТ ниже 70%. Снижение активности АТ до уровня 30% – 50% сопровождается выраженной тромбоциемией, что значительно увеличивает риск образования массивных тромбозов в микро- и макрососудах.

У гетерозигот с наследственным дефицитом протеина С активность антикоагулянта колеблется от 35% до 65%. Снижение активности протеина С до 65% считается критическим уровнем, определяющим риск тромбообразования.

Уровень свободного протеина S менее 33% определяет лиц с повышенным риском развития венозного и артериального тромбоза.

Особого внимания требует оценка тромбоопасности у новорожденных в зависимости от колебаний протеинов С и S. Это связано с тем, что уровень протеинов С и S у здоровых новорожденных значительно ниже, чем у детей старшего возраста и взрослых, и колеблется от 17% до 53%, постепенно повышаясь по мере взросления ребенка к 6–12 месяцам [15,16,17,18].

В наибольшей степени тромбоопасность выражена у гомозигот по сравнению с гетерозиготами. Так, гомозиготы с дефектом АТ несовместимы с жизнью. У гомозигот с дефицитом протеина С и протеина S тромбозы могут возникать во внутриутробном периоде, а также сразу после рождения. Классическим проявлением тяжелого наследственного дефицита протеина С и протеина S является неонатальный тромбоз в форме молниеносной (фульминантной) пурпуры, которая развивается обычно через 2-12 часов после рождения и проявляется некрозом кожи, диссеминированным внутрисосудистым свертыванием крови и гораздо реже артериальным и венозным тромбозом крупных сосудов. При отсутствии быстро начатой патогенетической терапии летальный исход у таких детей наблюдается очень часто.

Лица с резистентностью к АПС, обусловленной носительством фактора V Лейден, проявляют меньшую склонность к тромбозу. Лишь у 21–31% гетерозигот с этим дефектом развиваются тромботические проявления, и 30% из них имеют тромботические осложнения в возрасте до 40 лет. Даже у гомозигот с резистентностью к АПС не описано угрожающих жизни тромбозов в детском возрасте.

Относительный риск развития ВТЭО у носителей мутации G20210A в гене протромбина повышается в 2-3 раза. Носительство «двойной гетерозиготы» по мутации G20210A в гене протромбина и 1691GA в гене фактора V ассоциировано с увеличением риска развития венозных тромбозов в 10 раз.

### Современное представление о тромбофилии

Определенные изменения в представлении об «исключительности» тромбогенных мутаций в развитии ТЭО произошли после анализа клинических наблюдений [4]. Они убедительно показали, что наличие генетического дефекта, хотя и является существенным фактором, определяющим тромбоэмболический риск, однако его клиническая реализация наблюдается далеко не у всех носителей тромбофилического дефекта. Так, результаты исследования группы тромбогеномики в Соединенном Королевстве смогли установить генетический диагноз лишь у 48,9% пациентов с тромбоэмболическими заболеваниями, в то время как совокупная распространенность наследственных тромбофилических дефектов в общей популяции не является редкостью [19]. Было отмечено также, что у носителей НТ тромбоз носит эпизодический характер, часто между эпизодами тромбозов может быть продолжительный бессимптомный период. Эпизодическая природа тромбозов у лиц с врожденными формами тромбофилии позволила предположить, что для развития ТЭО должно быть сочетание генетического дефекта с другими патологическими факторами риска, способными усилить гемокоагуляционный потенциал крови.

Согласно утверждению Р. Вирхова (1884 г), клиническая реализация венозного тромбоза осуществляется посредством следующих патофизиологических процессов, включающих: 1) стаз крови в венах нижних конечностей, 2) повышенную способность крови к тромбообразованию и 3) повреждение стенки сосудов. Достаточно хотя бы 1 из 3 базовых патофизиологических процессов, чтобы на фоне тромбофилического дефекта произошла клиническая реализация тромбоза.

Отсутствие указанных патофизиологических механизмов у здоровых детей и молодых людей определяет низкую частоту встречаемости у них ТЭО даже при наличии одиночной значимой генетической тромбофилии. Объясняют это тем, что протромботический эффект наследственной тромбофилии уравнивается, прежде всего, сохранностью антикоагулянтных свойств сосудистого эндотелия. Напротив, у взрослых вероятность встречаемости указанных нарушений значительно возрастает в связи с возрастными особенностями организма, а также целым рядом сопутствующих патологических состояний и заболеваний. В связи с этим нетрудно себе представить тот перечень факторов риска, которые запускают патофизиологические механизмы, обеспечивающие клиническую реализацию тромбоза у взрослых.

Согласно современному представлению, диагноз тромбофилии предполагает наличие генетической предрасположенности, которая клинически проявляется ТЭО в результате взаимодействия тромбогенных мутаций с различными экзо- и эндогенными



факторами риска. Это приводит к преодолению порога равновесия в системе гемостаза с последующей избыточной генерацией тромбина и как следствие запуску тромботического события [2,4].

**Факторы риска клинического проявления наследственной тромбофилии**

В зависимости от интенсивности влияния на гемостаз факторы риска клинического проявления тромбофилии классифицируют как серьезные и незначительные, с выделением в каждой группе стойких и преходящих факторов риска (таблица 2).

Таблица 2

**Классификация некоторых факторов риска клинического проявления тромбофилии [4]**

Серьезные стойкие:	Серьезные преходящие:
Мужской пол	Операция
Возраст более 65 лет	Травма
Антифосфолипидный синдром	Беременность, послеродовой период
Активная форма онкологического заболевания	Тяжелая инфекция
Миелопролиферативные новообразования	Нефротический синдром с потерей антитромбина
Пароксизмальная ночная гемоглобинурия	Кесарево сечение
Незначительные стойкие:	Незначительные преходящие:
Некоторые формы наследственной тромбофилии	Курение
Группа крови не 0	Обезвоживание
Индекс массы тела более 30 кг/м <sup>2</sup>	Прием синтетических эстрогенов
Посттромботический синдром	Варикозная болезнь
Депрессия	Иммобилизация, полет более 4 часов
Волчаночный антикоагулянт	Прерывистая химиотерапия
Застойная сердечная недостаточность	Терапия тестостероном

**Характерные клинические проявления наследственных тромбофилий**

Наиболее частыми проявлениями НТ являются венозные тромбозы, преимущественно глубоких вен нижних конечностей, иногда осложняющиеся легочной эмболией. Редко встречаются тромбозы мозговых и мезентериальных вен. Что касается артериальных тромбозов, то их развитие, как и венозных, связывают с недостаточностью протеина S [20], хотя еще мало доказательств, что какой-либо другой дефект антикоагулянтной системы усиливает риск артериальных тромбозов.

В отличие от взрослых ТЭО у детей встречаются намного реже. Так ежегодная частота венозных тромбозов у детей составляет 0,7 случаев, инфарктов и инфарктов миокарда 1,0 и 0,1 случаев на 100000 человек в популяции. У взрослых тромбозы аналогичной локализации отмечены в 74,2, 45,4 и 175 случаях соответственно [15,18,19,21]. Интересно, что частота развития ТЭО выше у новорожденных, чем у детей старшего возраста. Объясняют это особенностями поддержания баланса в системе гемостаза в периоде новорожденности. Так, установлено, что у новорожденных детей по сравнению с детьми старшего возраста и взрослыми наблюдается гипокоагуляционный сдвиг, наиболее выраженный у доношенных младенцев на 3-4-е сутки

жизни, а у недоношенных на 1-е. Достоверное увеличение прокоагулянтов отмечается к 10-14 суткам жизни. Ранняя гипокоагуляция объясняется недостаточностью синтеза витамин К-зависимых факторов коагуляции (II, VII, IX, X), дефицитом факторов контакта (XI, XII, прекалликреина, высокомолекулярного кининогена) в ассоциации с определенной незрелостью сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. В постнатальном периоде уровень факторов свертывания увеличивается в различные периоды. У доношенных новорожденных значение фактора VII достигает показателей взрослых к 3-м неделям жизни, в то время как факторы II, IX, XI, прекалликреин, антитромбин и протеин С достигают значения взрослых только к 3-6 месяцам постнатального возраста. Активность фактора Виллебранда одинаково повышена как у доношенных, так и недоношенных новорожденных по сравнению с детьми старшего возраста, что приводит к повышенной адгезии тромбоцитов. Напротив, индуцированная агрегация кровяных пластинок в течение первых дней жизни снижена, но достигает активности взрослых между 5-м и 9-м днями жизни. У недоношенных детей отмечается еще более позднее формирование равновесия между отдельными звеньями системы гемостаза – прокоагулянтной, антикоагулянтной и фибринолитической.

Тромбоз у детей, и в особенности у младенцев, является многофакторным событием и результатом приобретенных (>90% случаев) и врожденных факторов риска, нарушающих хрупкий баланс в системе гемостаза. Существенный вклад в развитие ТЭО у новорожденных вносит нарушение реологических свойств крови. Повышенная вязкость крови в этом возрасте из-за высокого гематокрита и малый диаметр сосудов приводят к низкому капиллярному кровотоку, особенно при одновременном обезвоживании и состоянии гиперкоагуляции, вызванным инфекцией. Другим не менее важным фактором риска тромбоза в неонатальном периоде является использование венозных или артериальных катетеров. Генетические факторы связывают с риском ТЭО как у новорожденных, так и детей старшего возраста, но для большинства из них причинно-следственная связь до настоящего времени не установлена [21,22].

### Диагностика тромбофилии

Диагностика наследственной тромбофилии особенно важна для молодых пациентов, чтобы избежать дополнительных факторов риска ТЭО. В частности, носителям тромбогенных мутаций следует избегать курения, обезвоживания, иммобилизации, приема препаратов, содержащих эстрогены (комби-

нированные оральные контрацептивы или заместительная гормональная терапия в постменопаузе). О наследственной тромбофилии важно знать также, чтобы определить опасность развития ТЭО и необходимость назначения антикоагулянтной терапии с профилактической целью, например, при проведении химиотерапии во время беременности, хирургическом вмешательстве, иммобилизации, остром воспалительном заболевании [22,23,24].

Распознавание тромбофилии первоначально базировалось исключительно на результатах соответствующего лабораторного исследования – генетического и/или иммунологического. Однако клинические наблюдения показали, что носительство тромбогенных мутаций и полиморфизмов далеко не у всех носителей реализуется в виде ТЭО. Соответственно, возник вопрос, может ли изолированное выявление указанных нарушений служить объективным критерием диагностики тромбофилии.

Согласно современной концепции принципиальным требованием для диагностики тромбофилии является индивидуальная комплексная оценка состояния пациента, которая включает 2 этапа – оценку клинической ситуации, а затем выборочное лабораторное тестирование (таблица 3) [4].

Таблица 3

### Скрининг тромбофилии

Оценка клинической ситуации - показана всем больным	Лабораторная диагностика наследственной тромбофилии - показана отдельным больным
	<p><b>не показана:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- лицам старше 60 лет;</li> <li>- если первый ВТЭ был чем-то спровоцирован;</li> <li>- до назначения эстрогенов при отрицательной персональной и семейной истории ВТЭ;</li> <li>- если нет потомков.</li> </ul>

### Оценка клинической ситуации

Оценка клинической ситуации начинается с тщательного сбора личного и семейного анамнеза венозного (или артериального) тромбоза, возраста первого проявления тромбоза, прошлого клинического анамнеза, сопутствующих заболеваний и их прогноза, оценки приобретенных факторов риска ТЭО и побочных эффектов терапии. Особого внимания требует оценка приобретенных факторов риска, предшествующих развитию ТЭО у детей. Следует помнить, например, что у новорожденных ведущими триггерами ТЭО являются сепсис, обезвоживание, врожденная сердечная недостаточ-

ность, врожденные аномалии нижней полой вены, использование катетеров. ТЭО у подростков, как и у взрослых, чаще всего связаны с онкологическими заболеваниями, полихимиотерапией, иммобилизацией с применением гипсовых повязок, ожирением, ревматическими заболеваниями, инфекциями и использованием оральных контрацептивов.

### Лабораторная диагностика наследственной тромбофилии

Это исследование показано не всем, а только отдельным пациентам с подозрением на наследственную тромбофилию, которую можно предположить уже на этапе оценки клинической ситуации (таблица 4).

Таблица 4

**Лица, требующие проведения диагностики наследственной тромбофилии [3]**

Пациенты в возрасте до 40 лет без тромбозов в анамнезе из семей с подтвержденным ВТЭО
Пациенты с ВТЭО в возрасте до 40 лет с серьезными факторами риска развития тромбоза
Пациенты с идиопатическим тромбозом в возрасте до 50 лет
Молодые пациенты с эпизодами парадоксальной эмболии (межпредсердная коммуникация с право-левым шунтированием)
Женщины с ВТЭО во время беременности или в послеродовом периоде
Женщины с ВТЭО во время использования оральных контрацептивов или заместительной гормональной терапии
Женщины с ВТЭО в анамнезе и/или с положительным семейным анамнезом до решения вопроса о назначении оральных контрацептивов и заместительной гормональной терапии
Женщины с множественными необъяснимыми потерями беременности
Новорожденные с молниеносной пурпурой, некрозом кожи
Подростки с идиопатическим венозным тромбозом

*Примечание. В случае артериальных тромбозов следует рассмотреть вероятность приобретенной тромбофилии: наличие различных антифосфолипидных антител, а также гипергомоцистеинемии, как независимого фактора риска тромбозэмболических осложнений*

Поскольку возраст является одним из значимых факторов риска ТЭО, часто связанным с другими постоянными или временными факторами риска, вероятность генетической причины у лиц старше 60 лет без предшествующей истории тромбоза очень мала. Поэтому у пациентов старше 60 лет не рекомендуется проводить генетический скрининг. Генетический скрининг не рекомендуется проводить и при целом ряде других ситуаций. Например, у пациентов моложе 50 лет с ТЭО, но без явных факторов риска. У них в первую очередь следует исключить аутоиммунное, а также онкологическое заболевание. У более молодых пациентов, особенно в возрас-

те до 40 лет, прежде всего, следует учитывать такие факторы риска, как употребление наркотиков, эстрогенов, тестостерона, эритропоэтина. На этапе первого клинико-лабораторного обследования должны быть исключены заболевания, проявляющиеся тромботическими осложнениями – такие, как злокачественные новообразования, антифосфолипидный синдром и гематологические заболевания, включая лейкемию, миелопролиферативные новообразования.

В таблице 5 суммированы ситуации, при которых не рекомендуется проводить генетическую диагностику тромбофилии.

Таблица 5

**Лица, которым не рекомендуется проводить генетическую диагностику тромбофилии**

Больные старше 60 лет
Больные старше 50 лет с 1 или несколькими сильными факторами риска развития тромбоза
Больные с онкологическими заболеваниями (в активной и неактивной форме)
Больные с ВТО после операции и/или травмы
Молодые женщины с отрицательной персональной и семейной историей тромбоза перед назначением КОК

**Объем лабораторного исследования пациента с подозрением на наследственную тромбофилию**

На первом этапе обследования больному с подозрением на наследственную тромбофилию должны быть сделаны следующие базовые исследования:

1. Протромбиновый тест по Квику (ПТ)
2. Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ)
3. Уровень D-димера
4. Фибриноген (функциональным методом)

5. Тромбиновое время
6. Активность фактора VIII
7. Клинический анализ крови
8. Биохимические параметры функционального состояния почек и печени
9. Инфекционный статус
10. Лактатдегидрогеназа

При поиске возможной наследственной тромбофилии рекомендуется придерживаться основных дефектов в системе гемостаза, а именно: дефицита

естественных антикоагулянтов: антитромбина, протеинов С и S, а также мутации в гене фактора V (фактор V Лейден) и в гене протромбина.

Гетерозиготная или гомозиготная мутация метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR)- 677C→T, которая в прошлом рассматривалась как одна из форм наследственной тромбофилии, в настоящее время исключена из этого перечня, так как не подтверждена ее роль в качестве фактора риска для первого эпизода ВТО [23].

Лабораторная диагностика наследственной тромбофилии, обусловленной нарушением компонентов системы гемостаза, представляет определенные трудности, поскольку клинические прояв-

ления у больных с различными формами НТ носят однотипный характер. Существенным фактором, осложняющим лабораторную диагностику указанных состояний, является также то, что общепринятые в клинической практике тесты для оценки гемостаза (ПТ, АПТВ, уровень фибриногена) при многих формах тромбофилии либо показывают нормальные результаты, либо обнаруживают признаки гипокоагуляции, как в случаях с аномальным фибриногеном и волчаночным антикоагулянтом [25]. Поэтому для диагностики основных форм наследственных тромбофилий, наряду с вышеперечисленным объемом исследования, необходимо использовать ряд специальных тестов, перечисленных в таблице 6.

Таблица 6

### Комплекс тестов для диагностики основных форм наследственных тромбофилий и приобретенных факторов риска тромбоза

Определение генотипа фактора V и протромбина
Определение активности антитромбина и протеина С, уровня свободного протеина S
Тромбиновое время, чтобы не пропустить аномальный фибриноген
Уровень гомоцистеина
Волчаночный антикоагулянт, антитела к кардиолипину и $\beta 2$ – гликопротеину 1

Несмотря на то, что к настоящему времени полностью расшифрована структура генов, кодирующих АТ, протеины С и S, основным препятствием к широкому внедрению генетических тестов для скрининга указанных форм НТ является чрезвычайно высокая гетерогенность молекулярных повреждений генов ЕА. В связи с этим рекомендуется использование функциональных и иммунологических методов, направленных на определение активности и уровня этих белков в плазме крови.

Наряду с указанным объемом исследования у пациентов с подозрением на наследственную тромбофилию необходимо одновременно определить наличие волчаночного антикоагулянта, антител к  $\beta 2$ -гликопротеину 1 и кардиолипину для исключения приобретенной тромбофилии (носительство антифосфолипидных антител, АФА). Рекомендуется определять и уровень гомоцистеина как независимого фактора риска тромбоза (таблица 6).

Точность диагностики тромбофилического состояния зависит от времени проведения исследования. Диагностику не следует назначать во время острого события из-за искажения результатов в связи с самим тромбофилическим процессом и антикоагулянтной терапией. Идеально проводить тестирование через 4–6 недель после прекращения антикоагулянтной терапии.

### Некоторые особенности терапии больных с наследственной тромбофилией

Лечение и профилактика тромбоэмболических осложнений (ТЭО) у пациентов с различными формами наследственной тромбофилии не имеют принци-

альных отличий в выборе средств антитромботического действия [26,27]. Однако, если ТЭО развились у больных с дефицитом естественных антикоагулянтов, то наряду с известными препаратами антитромботического действия им следует назначить заместительную терапию в виде концентрата антитромбина, концентрата протеина С или свежезамороженную плазму (СЗП) в качестве источника всех естественных антикоагулянтов. Имеются данные о том, что введение СЗП, содержащей нормальный фактор V, больным с мутацией в гене фактора V (фактор V Лейден), значительно повышает эффективность антитромботической терапии у данной категории пациентов [28]. Объясняют это усилением расщепления фактора VIIIa активированным протеином С в комплексе с нормальной формой фактора V.

В то же время существует целый ряд особенностей, которые определяют эффективность терапии ТЭО у больных с дефицитом ЕА. В первую очередь это касается лиц с дефицитом АТ. В случае значительного снижения активности АТ лечение только одними препаратами гепарина не будет эффективным, поскольку сам по себе гепарин является кофактором, усилителем, антикоагулянтного действия АТ. Связываясь с АТ, гепарин усиливает активность АТ в 2000-5000 раз. Поэтому для полноценного антикоагулянтного действия препаратов гепарина необходимо присутствие достаточного количества АТ. На фоне низкой активности антитромбина эффективность гепарина в общепринятой дозировке снижена и требуется увеличение его дозы. Важно помнить также о том, что период полужизни АТ резко укорачивается

чивается до нескольких часов (в норме до 3-х суток) в присутствии лечебных доз гепарина. Этим обуславливается механизм парадоксального тромбообразования, когда продолжение гепаринотерапии приводит не к сдерживанию коагуляции, а к образованию тромбов. Дефицит АТ, кроме того, является основной причиной развития гепаринорезистентности, при лечении которой терапия концентратом АТ является терапией первого выбора. Для лечения больных с дефицитом АТ может быть использован лекарственный препарат, в частности «Антитромбин III человеческий» [29]. Специфическая активность препарата «Антитромбин III человеческий» составляет не менее 3 МЕ/мг белка плазмы. 1 МЕ Антитромбина III (согласно стандартам, ВОЗ) соответствует активности антитромбина в 1 мл свежей нормальной плазмы. Концентрат антитромбина показан для лечения больных с активностью антитромбина менее 70% нормы с целью профилактики и лечения тромботических и тромбоэмболических осложнений. Дозу препарата следует подбирать индивидуально с учетом исходной активности антитромбина в плазме пациента. Доза и частота введения препарата всегда должны основываться на клинической эффективности и результатах лабораторных исследований в каждом конкретном случае. Расчет необходимой дозы препарата основан на эмпирических данных о том, что 1 МЕ антитромбина, введенная на 1 кг массы тела, повышает активность антитромбина в плазме примерно на 2%. Начальная доза препарата рассчитывается по формуле:

Необходимая доза (МЕ) = масса тела (кг) × (целевой уровень- исходный уровень активности в %) × 0,5.

Доза должна определяться и контролироваться на основании лабораторных исследований активности антитромбина в плазме дважды в день, предпочтительно непосредственно перед следующим введением. Следует помнить, что заместительная терапия антитромбином при совместном применении гепарина в терапевтических дозах увеличивает риск кровотечения. Поэтому одновременное применение антитромбина и гепарина у пациента с повышенным риском кровотечения должно контролироваться клинически и биохимически.

Заместительная терапия у пациентов с недостаточностью протеина С осуществляется концентратом данного белка, который предназначен для лечения молниеносной пурпуры и кумарин-индуцированной некрозе кожи у пациентов с тяжелой врожденной недостаточностью протеина С [30]. Введение препарата с целью кратковременной профилактики показано пациентам с тяжелой врожденной недостаточностью протеина С в следующих случаях: при неизбежности хирургического или инвазивного вмешательства; в начале курса лечения производными кумарина; при недостаточной эффективности терапии только производными кумарина; при невозможности проведения курса лечения

производными кумарина. Терапию острого тяжелого состояния рекомендуется начинать с введения 60 МЕ/кг – 80 МЕ/кг концентрата с целью достичь 100% активности протеина С. После купирования острой симптоматики в процессе дальнейшего лечения активность протеина С в плазме больного рекомендуется поддерживать на уровне, превышающем 25%. Доза, частота введения, длительность терапии концентратом протеина С зависят от степени выраженности недостаточности протеина С, возраста пациента, его клинического состояния и уровня протеина С в плазме крови. Пациенты, проходящие лечение во время острой фазы заболевания, могут демонстрировать гораздо более низкие уровни повышения активности протеина С. Серьезные вариации индивидуальных реакций подразумевают, что воздействия препарата протеина С на параметры свертывания крови должны проходить регулярную проверку уровня протеина С. В случае острого тромботического заболевания каждые 6 часов должны выполняться лабораторные измерения активности протеина С до стабилизации состояния пациента, затем два раза в день и всегда непосредственно перед следующей инъекцией препарата. Необходимо помнить, что период полувыведения протеина С может значительно уменьшаться в определенных клинических состояниях, включая острый тромбоз с молниеносной пурпурой и некрозом кожи. При переводе пациента на постоянную терапию пероральными антикоагулянтами отмену терапии концентратом протеина С следует проводить только при достижении стабильного антикоагулянтного состояния. Более того, начинать терапию пероральным антикоагулянтом рекомендуется не со стандартной нагрузочной дозы, а с низкой дозы с последующим постепенным повышением. При применении препарата протеина С в клинической практике было отмечено несколько случаев кровотечений. Это могло быть связано с сопутствующим применением антикоагулянтов (например, гепарина). Однако, нельзя полностью исключить и то, что введение препарата протеина С дополнительно способствовало возникновению указанных случаев кровотечения.

#### **Заключение**

В заключение, следует особо подчеркнуть, что в клинической практике принципиальное значение имеет не просто понимание высокой вероятности тромбообразования у конкретного пациента, но и возможность использовать патогенетические подходы к лечению и профилактике тромботических осложнений. Успешное лечение, а также адекватная первичная и вторичная профилактика ТЭО облегчается, когда в распоряжении клинициста имеется индивидуальный профиль риска пациента, подразумевающий не только выявление совокупности наследственных и приобретенных факторов риска тромбоза, но и научно обоснованную оценку их взаимодействия.

### Список литературы

1. Папаян Л.П., Капустин С.И., Шмелева В.М., Кобилянская В.А. Тромбофилии. Врожденные и приобретенные нарушения в системе гемостаза, предрасполагающие к развитию тромбоза // глава в кн. «Рациональная фармакотерапия в гематологии» под ред. О.А. Рукавицына. – Москва: Литтера, 2021. – 784 с. – С.15-28.
2. Момот А.П. Проблемы тромбофилии в клинической практике // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2015. – Т.2. N.1. – С.36-48.
3. Mannucci P.M., Franchini M. Classic Thrombophilic Gene Variants // *Thromb Haemost.* – 2015. – V.114.N.5 – P.885-889.
4. Colucci G., Tsakiris D.A. Thrombophilia screening revisited: an issue of personalized medicine // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis.* – 2020. – V.49.N.2 – P.618-629.
5. Khider L., Gendron N., Mauge L. Inherited thrombophilia in the era of direct oral anticoagulants // *Int J Mol Sci.* – 2022. – V. 23. N.3. – P.1821.
6. Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia // *Thromb Diath Haemorrh.* – 1965. – V.13. – P.516-530.
7. Griffin J.H., Evatt B., Zimmerman T.S. et al. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease // *J Clin Invest.* – 1981. – V.68. N.5. – P.1370-1373.
8. Comp P.C., Esmon C.T. Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S // *N Engl J Med.* – 1984. – V.311. N.24. – P.1525-1528.
9. Dahlbäck B., Carlsson M., Svensson P.J. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1993. – V.90.N.3 – P.1004-1008.
10. Сироткина О.С., Барановская С.С., Волкова М.И. и др. Молекулярно-генетические основы наследственной предрасположенности к венозным тромбозам в российской популяции // *Артериальная гипертензия.* – 1998. – Т.5. N.1. – С.5.
11. Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H., Bertina R.M. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis // *Blood.* – 1996. – V.88. N.10. – P.3698-3703.
12. Morange P.E., Tregouet D.A. Current knowledge on the genetics of incident venous thrombosis // *J Thromb Haemost.* – 2013. – V.11. N.1. – P.111-121.
13. Капустин С.И., Блинов М.Н., Филановская Л.И. и др. Особенности распределения полиморфизмов –455 G/A в гене фактора I и –675 4G/5G в гене ингибитора активатора плазминогена типа I при венозном тромбозе // *Материалы Российской Научно-практической конференции «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии».* – СПб.: 2004. – С.91-92
14. Vossen C.Y., Walker I.D., Svensson P. et al. Recurrence rate after a first venous thrombosis in patients with familial thrombophilia // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2005. – V.25. N.9. –P.1992-1997.
15. Holzhauer S., Goldenberg N.A., Junker R. et al. Inherited thrombophilia in children with venous thromboembolism and the familial risk of thromboembolism: an observational study // *Blood.* – 2012. – V.120. N.7. – P.1510-1515.
16. Леонова Е. Ю., Синякин О. Ю. Особенности системы гемостаза у новорожденных детей. – 2016. – Т.28. N.2 – С.76-82.
17. Черкасова С.В. Гемостаз новорожденных // *Практика педиатра.* – 2020. – N.1. – С.49-52.
18. Румянцев А.Г., Масчан А.А., Жарков П.А., Свиринов П.В. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, профилактике и лечению тромбозов у детей и подростков // М.: 2015. – 113 с.
19. Downes K., Megy K., Duarte D. et al. Diagnostic high-throughput sequencing of 2396 patients with bleeding, thrombotic, and platelet disorders // *Blood.* – 2019. – V.134. N.23 – P.2082
20. Папаян Л.П., Капустин С.И., Севидж Д. и др. Новая мутация гена протеина S как этиопатогенетический фактор риска развития артериальных тромбозов в молодом возрасте // *Ученые записки.* – 2004. – Т.11. N.3. – С. 15-20.
21. Komitopoulou A. Thrombophilia and thrombotic disorders in newborns // *Hematol Transfus Int J.* – 2016. – V.2. N.1. – P.19-20.
22. Parker R.I. Thrombosis in the pediatric population // *Crit Care Med.* – 2010. – V.38. N.2. – P.71-75.
23. Connors J.M. Thrombophilia testing and venous thrombosis // *N Engl J Med.* – 2017. – V.377. N.12. –P.1177-1187.
24. Anderson F.A.Jr., Spencer F.A. Risk factors for venous thromboembolism // *Circulation.* – 2003. – 107. – V.23. N1. – P.19-116
25. Папаян Л.П., Кобилянская В.А., Шейдина А.М. и др. Изменения в системе гемостаза у больных с наследственной тромбофилией, обусловленной мутацией фактора V свертывания крови (фактор V Лейден) // *Терапевтический архив.* – 2001. – Т.73. N.7. – С.47-51.

26. 26. Андрияшкин А.В., Андрияшкин В.В., Арутюнов Г.П. и др. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений // Флебология. – 2015. – Т.9. N.2. – № 4. – С. 4-52.
27. 27. Kearon C., Akl E.A., Ornelas J. et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: CHEST guideline and expert panel report // Chest. – 2016. – V.149. N.2 – P.315-352.
28. 28. Салтыкова Н.Б. Особенности клинического течения некоторых болезней артерий и вен нижних конечностей у лиц с наследственной тромбофилией // Автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук. – Санкт-Петербург: 2003. – 22 с.
29. 29. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Антитромбин III человеческий [http://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routingGuid=2d04f6d3-57ff-4503-9fc9-d30986daeb9e&t=](http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=2d04f6d3-57ff-4503-9fc9-d30986daeb9e&t=)
30. 30. Инструкция по медицинскому применению препарата Сепротин [https://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routingGuid=815d35b1-35be-4f74-9536-b54fa7ec27db&t=](https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=815d35b1-35be-4f74-9536-b54fa7ec27db&t=)

Дудина Г.А., Оганнисян А.А., Мабудзаде Ч.К., Кремнева Н.В., Петрова Е.С.

ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова ДЗМ», г. Москва

### ЦИТОПЕНИЧЕСКИЙ СИНДРОМ У ВИЧ-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОВ (АНЕМИЯ, ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ, НЕЙТРОПЕНИЯ, МДС) (ЛЕКЦИЯ)

#### Резюме

Цитопения является частым гематологическим синдромом у пациентов с инфекцией, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Однако распространение, факторы риска появления и прогрессирования цитопенического синдрома у пациентов с ВИЧ-инфекцией практически не исследованы. В гемограмме могут выявляться анемия, тромбоцитопения, нейтропения, лимфоцитопения или их комбинации. В патогенезе цитопенического синдрома важная роль отводится гликопротеинам поверхностной оболочки ВИЧ, которые могут способствовать активации воспалительных путей, влияющих на микроокружение костного мозга. При этом цитокины воздействуют на гемопоэтические стволовые клетки, в частности интерлейкин-6, воздействует

на гепсидин, изменяя гомеостаз железа. Вирус иммунодефицита человека может снижать уровень эндогенного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ). Оппортунистические инфекции, особенно с теми микроорганизмами, которые традиционно приводят к гранулематозному воспалению, включая микобактерии, грибы, паразиты, могут привести к миелофиброзному поражению костного мозга. Хотя распространенность цитопений у ВИЧ-инфицированных снизилась с введением новых препаратов АРТ-терапии, даже полностью контролируемая ВИЧ-инфекция остается фактором риска развития анемии, нейтропении и тромбоцитопении.

**Ключевые слова:** ВИЧ, анемия, тромбоцитопения, нейтропения, лейкопения, АРТ

*Dudina G.A., Ohannisyann A.A., Mabudzade C.K., Kremneva N.V., Petrova E.S.*

*GBUZ "Moscow Clinical Scientific and Practical Center named after A.S. Loginov DZM", Moscow*

### CYTOPENIC SYNDROME IN HIV-POSITIVE PATIENTS (ANEMIA, THROMBOCYTOPENIA, NEUTROPENIA, MDS)

#### Abstract

Cytopenia is a common hematologic syndrome in people living with human immunodeficiency virus (PLWHIV) infection. However, the prevalence, risk factors for the onset and progression of cytopenic syndrome in patients with HIV infection have not been thoroughly studied. The hemogram may show anemia, thrombocytopenia, neutropenia, lymphocytopenia, or combinations of aforementioned cytopenias. In the pathogenesis of cytopenic syndrome, an important role is played by HIV surface envelope glycoproteins, which can contribute to the activation of inflammatory pathways that affect the bone marrow microenvironment. At the same time, cytokines act

on hematopoietic stem cells interleukin-6 (IL-6), acts on hepcidin, changing iron homeostasis. Human immunodeficiency virus can reduce the level of endogenous granulocyte colony stimulating factor (G-CSF). Opportunistic infections, especially with those organisms that traditionally lead to granulomatous inflammation, including mycobacteria, fungi, parasites, can lead to myelofibrotic lesions of the bone marrow. Although the prevalence of cytopenias in HIV-infected people has decreased with the introduction of new ART drugs, even fully controlled HIV infection remains a risk factor for anemia, neutropenia, and thrombocytopenia.

**Keywords:** HIV, anemia, thrombocytopenia, neutropenia, leukopenia, ART

Назначение антиретровирусной терапии (АРТ) пациентам с ВИЧ-инфекцией с момента установления диагноза увеличило продолжительность жизни пациентов, снизилась заболеваемость злокачественными новообразованиями, при этом клеточный состав периферической крови остается крайне вариабельным по степени компрометации лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов. Доказано, что высокоактивная АРТ значительно снижает смертность от СПИДа и приводит к восстановлению количества

клеток периферической крови. Однако, некоторые антиретровирусные препараты, например, такие как зидовудин (AZT), могут проявлять цитотоксичность в отношении костного мозга и способствуют развитию цитопении у ВИЧ-инфицированных пациентов [3,4]. Оценка возможного токсического лекарственного взаимодействия крайне важна для пациентов с вторичным иммунодефицитом.

Больные ВИЧ-инфекцией относятся к группе повышенного риска развития цитопении [1,2]. Низ-



кий уровень CD4+ клеток, более высокая вирусная нагрузка, запущенные стадии заболевания и побочные эффекты лекарственных препаратов, используемых для лечения ВИЧ, являются факторами риска появления цитопении у ВИЧ инфицированных пациентов [3]. При ВИЧ-инфекции цитопенический

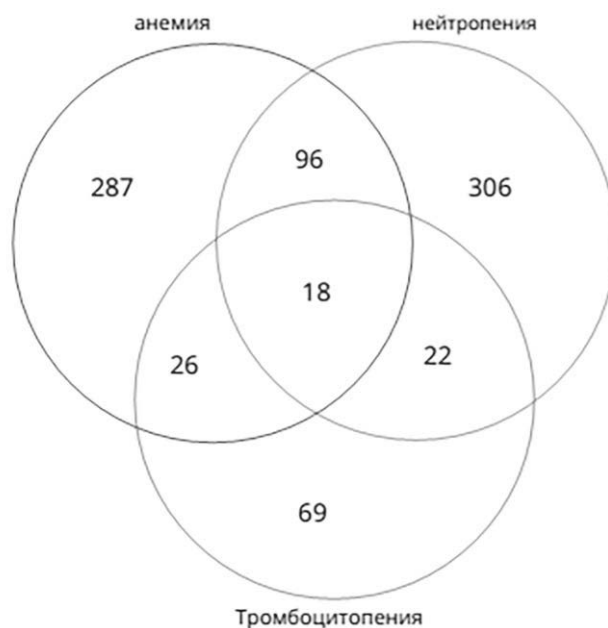
синдром часто связан с прогрессированием заболевания в стадию СПИД, что сопровождается наличием вторичных инфекций, вызванных бактериальными и грибковыми возбудителями, оппортунистическими вирусами с высокой ранней летальностью (рисунок 1).



Рисунок 1. Причины цитопенического синдрома при ВИЧ

ВИЧ-инфекция связана с многочисленными нарушениями кроветворения, воздействуя на все три ростка гемопоэза на уровне стволовых клеток кроветворения, при этом данные об их частоте в настоящий момент остаются противоречивыми. В литературных источниках крайне редко встречаются обзоры исследований гематологических показателей с включением ВИЧ-больных. Это связано со сложностью аккумулирования сведений гематологических проблем при ВИЧ-инфекции. Одним из самых крупных является исследование Пекинской больницы Дитань столичного медицинского университета, в которое с ноября 2004 г. по август 2016 г. было включено 5047 ВИЧ-инфицированных пациентов, находившихся на диспансерном наблюдении после назначения АРТ в отделении инфекционных болезней. Были собраны демографические и клинические данные о пациентах, ранее не получавших АРТ, включая пол, возраст, рост, вес, путь

передачи, начальное время лечения АРТ и стадию заболевания по классификации ВОЗ. Лабораторные данные, такие как: абсолютное число нейтрофилов, концентрация гемоглобина, абсолютное количество тромбоцитов и абсолютное количество CD4+ Т-клеток определяли у всех пациентов при включении в исследование. Цитопения была выявлена у 824 (19,1%) пациентов в данной когорте, причем из них у 662 (15,3%) больных была уницитопения, у 144 (3,3%) — бицитопения, у 18 (0,4%) — панцитопения. Среди случаев уницитопении у 287 (6,63%) больных выявлялась изолированная анемия, у 306 (7,7%) — изолированная нейтропения, у 69 (1,6%) — изолированная тромбоцитопения. Среди случаев бицитопении 96 (2,2%) имели анемию и нейтропению, 26 (0,6%) — анемию и тромбоцитопению и 22 (0,5%) — тромбоцитопению и нейтропению. Распространенность цитопении показана на рисунке 2. [2,4].



Фигура2: Распределение случаев цитопении среди участников исследования.

Рисунок 2. Распространенность цитопении

Явное разрешение цитопении наблюдалось в среднем через 24 месяца АРТ. Процент восстановления цитопении показан в таблице 1. Обнаружено, что доля нейтропении, анемии, тромбоцитопении, бицитопении и панцитопении уменьшилась после 6, 12 и 24 месяцев антиретровирусной терапии [4].

Таблица 1

Доля цитопений на исходном уровне и через 6, 12, 24 месяцев антиретровирусной терапии

Цитопения	Исходный уровень	Через 6 месяцев АРТ	Через 12 месяцев АРТ	Через 24 месяцев АРТ
нейтропения	285 (46,6%)	97 (18%)	92 (15,1%)	69 (11,3%)
анемия	349 (57,1%)	91 (14,9%)	56 (9,2%)	48 (7,9%)
тромбоцитопения	118 (19,3%)	27 (4,4%)	26 (4,3%)	15 (2,5%)
уницитопения	483 (79,1%)	155 (25,4%)	133 (21,8%)	108 (17,7%)
бицитопения	111 (18,2%)	21 (3,4%)	16 (2,6%)	12 (2%)
панцитопения	16 (2,6 %)	6 (1%)	3 (0,5%)	1 (0,2%)

### Патогенез влияния ВИЧ на кроветворение

Цитопенический синдром часто может быть обусловлен вторичной дисплазией клеток костного мозга/периферической крови ВИЧ-инфицированных лиц. Сам ВИЧ может быть ответственен за:

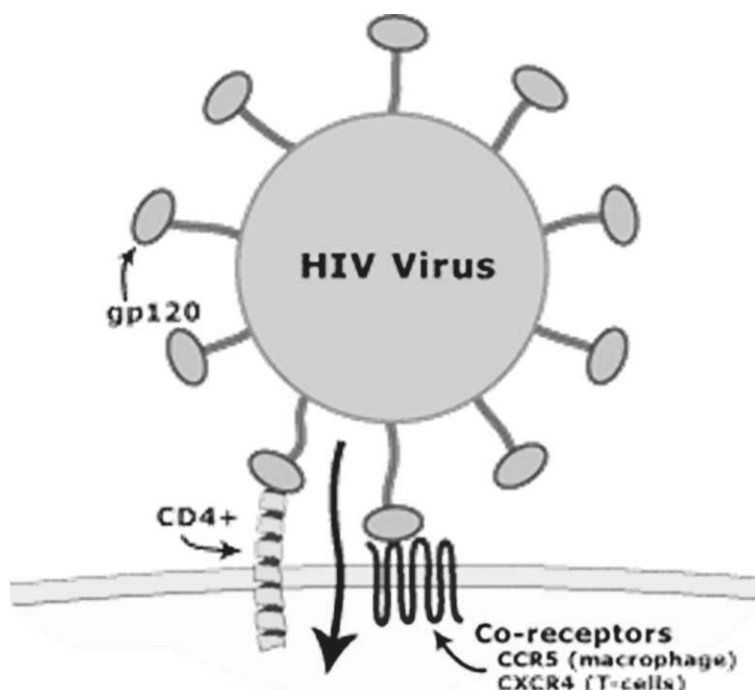
1. нарушение кроветворения через прямое инфицирования ГСК-клеток ВИЧ,
2. ВИЧ-индуцированный апоптоз ГСК-клеток,
3. нарушение оптимального функционирования сети стромальных клеток костного мозга,
4. ВИЧ-ассоциированные аутоиммунные реакции;
5. ВИЧ-индуцированные изменения в клеточных сигнальных событиях, регулирующих пролиферацию и дифференцировку ГСК-клеток [5].

### Нарушение кроветворения через прямую инфекцию ГСК-клеток

Хемокиновый рецептор типа 5 с мотивом СС (CCR5) и хемокиновый рецептор типа 4 с мотивом СХС (CXCR4) представляют собой корецепторы, которые вместе с CD4 обеспечивают опосредованное рецептором проникновение ВИЧ в клетки-хозяина, такие как CD4 +Т-клетки [6]. Поскольку ГСК экспрессируют низкий уровень CD4 и переменные уровни CCR5 и CXCR4, они потенциально восприимчивы к ВИЧ-инфекции. Тем не менее, до сих пор нет единого мнения относительно того, способен ли ВИЧ напрямую инфицировать ГСК. Большинство исследований, в которых изучалась способность ВИЧ инфицировать ГСК, проводились в лабораторных условиях.

Из-за этических и логистических проблем, связанных с получением достаточных объемов аспирата костного мозга от ВИЧ-инфицированных пациентов, *ex vivo* исследований недостаточно. В изоли-

рованном исследовании Редди и соавт. сообщалось, что ВИЧ-1 подтипа С (ВИЧ-1С), но не ВИЧ-1 подтипа В (ВИЧ-1В), может инфицировать ГСК (рисунок 3) [7].



Хемокиновый рецептор типа 5 с мотивом СС (CCR5) и хемокиновый рецептор типа 4 с мотивом СХС (CXCR4) представляют собой корецепторы, которые вместе с CD4 обеспечивают опосредованное рецептором проникновение ВИЧ в клетки-хозяева, такие как CD4 +Т-клетки

Рисунок 3. Инфицирование ГСК вирусом иммунодефицита

### ВИЧ-индуцированный апоптоз ГСК-клеток

В нескольких исследованиях показано, что комплексы антитело/вирусный белок, такие как комплексы анти-*gp120/gp120*, способны с высокой аффинностью связываться с молекулами CD4, экспрессируемыми на поверхности ГСК, и тем самым индуцировать апоптоз через Fas-зависимый механизм. Этот механизм не зависит прямо от ВИЧ-инфицирования ГСК. Вирусные белки, такие как *gp120* и *Tat*, по-видимому, не только играют роль в ВИЧ-опосредованном апоптозе ГСК, но также нарушают пролиферацию ГСК, увеличивая продукцию трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ), негативного регулятора гемопоэза [5].

### Нарушение оптимального функционирования сети стромальных клеток костного мозга

Строма костного мозга состоит из гетерогенного пула клеток, включая макрофаги, эндотелиальные клетки, мезенхимальные стромальные клетки и шванновские клетки. Оптимальная микросреда стромы костного мозга необходима для поддержания регуляции, пролиферации и дифференцировки ГСК. ВИЧ-инфекция может приводить к изменениям стромальной структуры костного мозга. Например, в костном мозге ВИЧ-инфицированных, наблюдается повышенное количество фибробластов и макрофагоподобных клеток. Кроме того, макрофаги, ассоциированные с костным мозгом, чувствительны как к CCR5-, так и к CXCR4-тропным штаммам ВИЧ-1 [8]. ВИЧ-инфекция также приводит к изменению мульт-

типотентного клоногенного потенциала мезенхимальных стромальных клеток, ассоциированных с костным мозгом. Исследования показывают, что мезенхимальные и эндотелиальные клетки, происходящие из костного мозга, могут быть напрямую инфицированы ВИЧ, что приводит к изменению передачи сигналов цитокинов и, следовательно, к гибели ГСК. Эти связанные с ВИЧ изменения в составе стромы костного мозга и в клеточной сигнальной среде приводят к созданию поддерживающей микросреды. В результате возникает нарушение кроветворения [9].

### ВИЧ-ассоциированные аутоиммунные реакции

Основной причиной ВИЧ-ассоциированной иммунной тромбоцитопении является иммуноопосредованное разрушение тромбоцитов вследствие аутоиммунной реакции, в результате которой антитела против белков оболочки ВИЧ перекрестно реагируют с эпитопом GPIIb, присутствующим на поверхности тромбоцитов. Также предполагается, что перекрестная реакция между антителами к эритропоэтину (анти-EP1) и вирусным фрагментом Gag-аутоантител приводит к нарушению эритропоэза и последующему проявлению анемии. Опосредованное разрушение эритроцитов может приводить к проявлению аутоиммунной гемолитической анемии (АИГА). Патофизиология ВИЧ-ассоциированного АИГА до конца не выяснена, и было предложено несколько потенциальных механизмов. Предполагает-

мые механизмы включают аномальную регуляцию В-клеток ВИЧ-инфицированными Т-клетками, прямую ВИЧ-индуцированную активацию В-клеток и ответ В-клеток на ЦМВ или вирус Эпштейна-Барр. Предполагается, что эти механизмы приводят к ВИЧ-ассоциированному нарушению регуляции выработки антител [10].

### **ВИЧ-опосредованное нарушение клеточной сигнальной сети**

ВИЧ изменяет среду цитокинов в строме костного мозга. Выявляемое ВИЧ-опосредованное нарушение передачи сигналов цитокинов включает различные цитокины и гемопоэтические факторы, такие как интерлейкин (IL)-1, IL-6, IL-18, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) и другие. Эти цитокины играют основную роль в регуляции и поддержании нормального кроветворения, и любой дисбаланс может негативно повлиять на кроветворение. Несколько исследований показали, что профили цитокинов плазмы ВИЧ-инфицированных людей отличаются от профилей неинфицированных людей. В плазме ВИЧ-инфицированных пациентов обнаружены более высокие уровни ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-7, Г-КСФ и фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ). Также было обнаружено, что провоспалительные цитокины ФНО $\alpha$ , ИЛ-1 и ИЛ-6 и хемокины макрофагального воспалительного белка (MIP)-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  и RANTES активируются в костном мозге ВИЧ-инфицированных одновременно. Это хроническое нарушение регуляции клеточных сигнальных путей оказывает негативное влияние на пролиферацию и дифференцировку ГСК. ВИЧ-инфекция также вызывает снижение эндогенного Г-КСФ, что, в свою очередь, приводит к нарушению пролиферации и дифференцировки GMP, предшественников нейтрофилов, моноцитов и макрофагов. Было обнаружено, что лечение ГКСФ вызывает увеличение количества нейтрофилов и восстановлению функции нейтрофилов у ВИЧ-инфицированных лиц, снижая риск коинфекции у пациентов с нейтропенией [8].

### **Анемия у ВИЧ- положительных пациентов**

Анемия – снижение гемоглобина и/или эритроцитов, самый частый цитопенический синдром, встречаемый в гемограмме ВИЧ-инфицированных больных, нередко сочетается с другими цитопениями. Тяжесть анемии часто используется как показатель неблагоприятного прогноза заболевания независимо от количества CD4+. Однако, это совсем неправильно, поскольку некоторые причины анемии, например, дефицит питательных веществ, не связан с ВИЧ-инфекцией и стадией заболевания. Факторы, вызывающие анемию у ВИЧ-инфицированных, можно условно разделить на три основные категории:

- 1) снижение продукции эритроцитов;
- 2) усиление разрушения эритроцитов;
- 3) неэффективное производство эритроцитов из-за дефицита питательных веществ.

Поэтому несмотря на широкое применение АРТ, анемия, связанная с ВИЧ, остается серьезной проблемой. Однако недавние сообщения указывают на то, что ВИЧ-инфицированные пациенты, находящиеся на АРТ, имеют меньший риск смерти от анемического синдрома [11].

### **Гематологические аспекты анемии у ВИЧ-положительных пациентов**

Анемия у ВИЧ+ часто связана с низким содержанием ретикулоцитов, что свидетельствует о ее гипорегенеративных свойствах, вследствие угнетения кроветворения в костном мозге. Это подавление является многофакторным, отражая воздействие вирусной инфекции, воспаления, недоедания, злокачественных новообразований и, в некоторых случаях лекарственной токсичности АРТ. В этом контексте ВИЧ нарушает микроокружение костного мозга, что приводит к увеличению уровня воспалительных цитокинов, иммуноглобулинов и белков острой фазы в ответ организма-хозяина на вирусную инфекцию. Дисбаланс цитокинов может по-разному влиять на гемопоэтические клетки-предшественники.

Повышенный уровень ИЛ-6 вызывает повышенную продукцию гепсидина, важного регулятора гомеостаза железа. Повышение гепсидина отвечает за задержку железа внутри макрофагов и эритроцитов, что приводит к снижению концентрации железа в сыворотке крови и, как следствие, снижению продукции гемоглобина [12]. Снижение концентрации железа в сыворотке крови приводит к более тяжелой анемии у ВИЧ-позитивных пациентов по сравнению с ВИЧ-негативными. Кроме того, ИЛ-1 и ФНО- $\alpha$  ингибируют продукцию эритропоэтина, препятствуя пролиферации клеток предшественников эритроцитов. У ВИЧ+ часто обнаруживают дефицит питательных веществ из-за анорексии и желудочно-кишечных расстройств, вызванных как кишечными инфекциями, так и возможной непереносимостью АРТ. Дефицит витамина B12 также является достаточно распространенной проблемой, обусловленной недостатком питания, аутоиммунными заболеваниями желудка, паразитарными инфекциями, и возникает более чем у 30% ВИЧ+ в результате нарушений белков, связывающих витамин B12 [13]. Дефицит фолиевой кислоты чаще возникает при прогрессирующем иммунодефиците, а также в контексте диареи и тяжелых состояний мальабсорбции. Также дефицит фолиевой кислоты может быть вызван длительным приемом сульфаниламидных препаратов (бисептол). Дефицит железа и неправильное распределение железа, вызванное воспалением, также могут способствовать развитию анемии у ВИЧ+. Недавнее исследование показало, что у ВИЧ+ с анемией были более низкие уровни сывороточного железа и ферритина, и что прогрессирование ВИЧ-инфекции увеличивает общую железосвязывающую способность [14].

Оппортунистические инфекции у ВИЧ+ являются важной причиной развития анемии, так как некоторые из этих инфекций традиционно связаны с нарушением кроветворения. Бактерии, такие как микобактерии туберкулеза, грибы, паразиты, а также плазмодии часто инфильтрируют костный мозг, нарушая его нормальную архитектуру и подавляя созревание клеток предшественников [15].

Гепатит С, вирусная инфекция Эпштейна-Барр, цитомегаловирусная инфекция и туберкулез также являются инфекциями, при которых часто встречается анемия. Несмотря на то, что это преимущественно гипорегенеративная анемия, гемолиз также может быть причиной развития анемии у ВИЧ+. Образование антиэритроцитарных антител вследствие гипергаммаглобулинемии является основной причиной гемолитической анемии у ВИЧ+, а прямой тест Кумбса положителен у 18% госпитализированных ВИЧ+. Другими причинами гемолитической анемии у ВИЧ+ являются микроангиопатическая гемолитическая анемия и лекарственная анемия у пациентов с дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [15].

В Африке коинфекция ВИЧ и малярии является основной причиной тяжелой анемии и смертности ВИЧ+. Нормоцитарная нормохромная анемия является наиболее частой; однако в исследованиях также была описана высокая частота макроцитоза (например, обычно связанного с лечением зидовудином). Он может нарушать репликацию ДНК и деление клеток эритробластов, вызывая макроцитоз зрелых эритроцитов. Это явление происходит из-за того, что зидовудин конкурирует с природными дезоксирибонуклеозидтрифосфатами за связывание с обратной транскриптазой и за включение во вновь синтезированные вирусные нити ДНК, ингибируя вирусную обратную транскриптазу и клеточную ДНК-полимеразу млекопитающих. Развитие макроцитоза у ВИЧ+ может свидетельствовать о соблюдении режима антиретровирусной терапии зидовудином [16,17].

Несмотря на то, что лечение повышает уровень гемоглобина, даже у пациентов, получающих АРТ, может длительно персистировать анемический синдром без каких-либо отчетливых клинических симптомов. Крайне важно обеспечить регулярное проведение общего анализа крови у всех пациентов, чтобы контролировать прогрессирование анемии

и планировать как диагностические, так и лечебные опции для снижения потенциальных рисков, связанных с этим сопутствующим заболеванием. Кроме того, выбор АРТ имеет важное значение для предотвращения развития анемии, учитывая, что схемы на основе зидовудина показали возможную связь с анемическим состоянием. Поскольку низкий гемоглобин является установленным неблагоприятным прогностическим маркером, своевременное выявление анемии может привести к улучшению качества жизни и уменьшению смертности пациентов с ВИЧ-инфекцией.

#### **Лечение анемии у ВИЧ-больных**

В настоящее время для коррекции анемии при различных состояниях используются три терапевтические стратегии:

1. Препараты железа, фолиевая кислота, витамин В12
2. Эритропоэз-стимулирующие агенты (эритропоэтины)
3. Гемотрансфузии

В отношении ВИЧ-инфекции нет исследований, в которых бы на статистически значимой выборке больных изучалась эффективность лечения анемии каким-либо из представленных выше подходов. Терапия должна быть полностью ориентирована как на патогенез анемического синдрома, так и, самое главное, на уровень гемоглобина и эритроцитов. С учетом представленных данных о патогенезе анемии у этой категории больных правильным будет утверждение о том, что прежде всего необходимо оценить, какая именно анемия развилась у каждого конкретного больного: АХЗ (функциональный дефицит железа) или ЖДА (абсолютный дефицит железа). В случае развития анемии легкой степени тяжести в большинстве случаев достаточно применения специфической АРТ для увеличения концентрации гемоглобина [18-20].

#### **Тромбоцитопения у ВИЧ- положительных пациентов**

Тромбоцитопения очень часто является первым гематологическим проявлением ВИЧ-инфекции. Степень выраженности тромбоцитопении может меняться в зависимости от CD4+, возраста, наличия коинфекции ВГС/ВГВ, оппортунистических инфекций и схемы АРТ. Возникновение тромбоцитопении является предиктором тяжести заболевания и более высокой летальности у ВИЧ+ пациентов (рисунок 4).



Рисунок 4. Гематологические аспекты и причины тромбоцитопении у ВИЧ-положительных (ВИЧ+)

Причины снижения тромбоцитов у ВИЧ+ многофакторны и могут возникать в результате разрушения тромбоцитов или снижения их продукции [21]. Исследование, проведенное в Бразилии с участием 55 ВИЧ+ пациентов с тромбоцитопенией, показало, что у 63,6% пациентов была идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, а у 25,5% – недостаточность продукции тромбоцитов, в обоих случаях вторичная по отношению к ВИЧ-инфекции [22].

Периферическое разрушение обычно происходит в начале инфекции из-за перекрестной реактивности между гликопротеином 120 в оболочке вируса и гликопротеином IIIa тромбоцитов. Эта перекрестная реактивность антител способствует захвату и лизису тромбоцитов в ретикулоэндотелиальной системе селезенки или раннему апоптозу, что приводит к иммунной тромбоцитопении. Исследование, проведенное в Канаде, показало, что у 0,6% ВИЧ+ развилась тяжелая иммунная тромбоцитопеническая пурпура, из них у 55% было клиническое кровотечение, а 33,3% ранее не получали АРТ [23].

Точно так же 5% ВИЧ+ имели антитромбоцитарные антитела в крупном исследовании, проведенном в Уганде [24].

Напротив, снижение продукции тромбоцитов обычно происходит на более поздних стадиях СПИДа. Мегакариоциты в костном мозге экспрессируют рецепторы CD4 и корецепторы, необходимые для ВИЧ-инфекции, и клинические исследования показывают, что мегакариоциты интернализуют ВИЧ и экспрессируют вирусную РНК. В результате ВИЧ-инфекции незрелые мегакариоциты снижают экспрессию рецептора тромбопоэтина. Таким образом, созревание мегакариоцитов нарушается из-за нарушения сигналинга колониеобразующих единиц роста мегакариоцитов [25].

ВИЧ-инфицированные мегакариоциты также демонстрируют морфологические изменения и повышенную скорость апоптоза [26].

Коинфекция вирусами гепатита С (ВГС) и В (ВГВ) также может вызывать тромбоцитопению у ВИЧ+ из-за возможного поражения печени, ответственного за снижение продукции тромбопоэтина. Исследование, проведенное с участием 38 ВИЧ+ больных, показало, что у пациентов с нормальным количеством тромбоцитов уровень тромбопоэтина в сыворотке был выше, чем у пациентов с тяжелой тромбоцитопенией. Кроме того, все пациенты с тяжелой тромбоцитопенией дали положительный результат на антитела к ядерному антигену вируса гепатита В [27].

Учитывая, что тромбоцитопения может быть первым гематологическим проявлением ВИЧ-инфекции и тесно связана с развитием СПИДа, количество тромбоцитов может предсказать эволюцию бессимптомной ВИЧ-инфекции в СПИД. Мониторинг развития тромбоцитопении еще более важен у ВИЧ+ с коинфекциями ВГС и ВГВ, поскольку они могут усугублять тромбоцитопению у этих пациентов. Охват АРТ выступает как независимый фактор профилактики тромбоцитопении, что оправдывает универсальное лечение всех ВИЧ+.

### Лечение тромбоцитопении у ВИЧ-больных

Несмотря на то, что в литературе описаны случаи спонтанной нормализации количества тромбоцитов у обсуждаемой категории пациентов, данное явление рассматривается как достаточно нередкое, а сама тромбоцитопения требует при наличии геморрагического синдрома активного терапевтического вмешательства [28].

Связь количества тромбоцитов с клиническими проявлениями позволяет прогнозировать возможность выполнения медицинских манипуляций при тромбоцитопении (таблица 2).

Таблица 2

**Связь количества тромбоцитов с клиническими проявлениями**

Количество тромбоцитов	Значение
$\geq 100 \times 10^9/\text{л}$	Полностью обеспечивает гемостаз. Позволяет проводить оперативные вмешательства и родоразрешение без риска кровотечений
$> 50 \times 10^9/\text{л}$	Безопасная концентрация тромбоцитов. Отсутствие спонтанного геморрагического синдрома. При появлении признаков кровоточивости при данном количестве тромбоцитов следует искать дополнительные провоцирующие факторы или учитывать наличие сосудистой патологии у пациентов преклонного возраста
$30-50 \times 10^9/\text{л}$	Терапия проводится только при наличии геморрагического синдрома
$< 10 \times 10^9/\text{л}$	Критический для развития опасных для жизни геморрагических проявлений уровень тромбоцитов. Пациенты с такой тромбоцитопенией нуждаются в безотлагательной терапии, независимо от степени клинических проявлений геморрагий

Принципиальным отличием терапевтического подхода при ВИЧ-ассоциированной тромбоцитопении является приоритетность антиретровирусной терапии. Эффективность данного подхода объясняется различными механизмами влияния АРТ препаратов на тромбоцитопению. При неэффективности или недостаточной эффективности АРТ, при исключении других механизмов тромбоцитопении, а также при отсутствии отшнуровки тромбоцитов в костном мозге при увеличенном количестве мегакариоцитов, выявлении тромбоцит-ассоциированных антител в качестве второй линии терапии выступают стандартные для лечения ИТП препараты: глюкокортикостероиды и ВВИГ. В данном качестве могут применяться преднизон или преднизолон из расчета 0,5-1 мг/кг/сутки перорально 2-3 недели с последующей постепенной отменой в течение 3-4 недель. Альтернативной схемой применения ГКС является высокодозная терапия дексаметазоном 40 мг перорально или внутривенно 1-4 дни, в сумме до 4 циклов с промежутками в 2-4 недели между циклами. При проведении данной схемы терапии обязательно нужно предварительное исключение активных оппортунистических инфекций с поражением легочной ткани, туберкулеза, предварительное исследование иммунологического статуса и вирусной нагрузки. Учитывая иммуносупрессивный эффект ГКС, у ВИЧ-положительных пациентов рекомендуется их применение в минимальной эффективной дозе.

При неэффективности стандартной терапии могут применяться агонисты тромбопоэтиновых рецепторов – тромбопоэтина (миметики тромбопоэтина), ромиплостим (Энплейт) и элтромбопаг (Револейд). Миметики тромбопоэтина – препараты неиммуносупрессивного действия, стимулирующие выработку тромбоцитов за счет активации рецепторов к тромбопоэтину на тромбоцитах и мегакариоцитах. Элтромбопаг является агонистом рецепторов, которые локализируются не только на мегакариоцитах и тромбоцитах, но и на стволовых клетках крови. Связывается с трансмембранным доменом тромбопоэтиновых рецепторов, не конку-

рируя с эндогенным тромбопоэтином, и обладает иммуномодулирующими свойствами посредством активации Т-регуляторных клеток. Рекомендации относительно дозировки ромиплостима установлены в пределах 1-10 мкг/кг/неделю подкожно с началом терапии с минимальной дозы с необходимостью ее дальнейшего титрования в зависимости от количества тромбоцитов.

**Нейтропения у ВИЧ-положительных пациентов**

Широкий диапазон частоты нейтропении, связанной с ВИЧ, вероятно, обусловлен тяжестью ВИЧ-инфекции и использованием профилактических препаратов, таких как ко-тримоксазол, который, как известно, вызывает супрессию костного мозга за счет ингибирования метаболизма фолиевой кислоты. Низкое количество CD4 Т-клеток и высокая вирусная нагрузка ВИЧ в плазме являются факторами риска развития нейтропении. Таким образом, нейтропения особенно распространена у лиц с прогрессирующим заболеванием и обычно связана с другими цитопениями, т.е., бицитопенией и панцитопенией. Кроме того, тяжесть нейтропении связана с риском оппортунистической коинфекции. Доброкачественная этническая нейтропения широко распространена среди лиц африканского происхождения. Таким образом, у лиц с низким числом нейтрофилов (<2500 клеток/мкл) следует исключить этническую нейтропению [29,30].

**Гематологические аспекты и причины нейтропении у ВИЧ-положительных (ВИЧ+)**

Патогенез нейтропении при ВИЧ многогранен: прямое и опосредованное миелосупрессивное действие ВИЧ и оппортунистических инфекций, таких как цитомегаловирус, *Mycobacterium avium*, *Histoplasma*. Лейкемизация костного мозга опухолевыми лимфоцитами при лимфопролиферативных заболеваниях, частота которых повышается при наличии положительного ВИЧ статуса. Возможное миелосупрессивное действие медикаментов, применяемых при терапии ВИЧ и сопутствующих данному диагнозу состояний, и т.д. [31].

Главный механизм возникновения нейтропении при ВИЧ объясняется тропностью данного вируса к гемопоэтическим CD34+ клеткам, экспрессирующим CD4, CXCR4, CCR5, которые являются рецепторами для ВИЧ-1, с нарушением процессов их дифференцировки и индукцией апоптоза. Происходит стимуляция синтеза таких цитокинов, как ФНО-альфа, ИЛ-1, трансформирующий фактор бета, обладающих супрессивным действием на гранулоциты. Также доказана ингибирующая клетки-предшественники роль антител к вирусному гликопротеину gp120. Немаловажная роль отводится инфицированию ВИЧ клеток микроокружения в костном мозге, критически важных для нормального гемопоэза. С прогрессией инфекции растет также дисфункция нейтрофилов. Отмечено снижение синтеза супероксидных анионов, нарушение процесса дегрануляции, ослабление хемотаксиса и фагоцитоза, необходимых для адекватной антибактериальной активности нейтрофилов. Точные механизмы данных явлений до конца не установлены [32].

Цитомегаловирус (ЦМВ), подобно ВИЧ, напрямую может инфицировать клетки-предшественники гемопоэза, снижая их чувствительность к факторам роста. Дополнительно моноциты, поражённые ЦМВ, синтезируют вышеупомянутый ИЛ-1, имеющий миелосупрессивный эффект. Подобное действие в также характерно для *Mycobacterium avium* и *Mycobacterium intracellulare* [33].

Ганцикловир, фоскарнет и цидофовир хорошо известны своим миелосупрессивным потенциалом. В исследовании с 320 участниками, принимавшими ганцикловир из расчёта 3 г/кг массы тела, у 54% имела место нейтропения. Аналогичные данные (66% из 750 исследуемых) были получены при внутривенной терапии данным агентом. Ко-тримоксазол, часто применяемый для антибактериальной профилактики и терапии уже имеющейся бактериальной инфекции, вызывает миелосупрессию примерно у половины получающих его пациентов [34,35].

Таким образом, можно выделить пациентов с высоким риском нейтропении в зависимости от наличия нижеперечисленных критериев (таблица 3).

Таблица 3

### Факторы, увеличивающие риск развития нейтропении

Зидовудин-содержащая АРТ
Наличие активной оппортунистической инфекции
Наличие ганцикловира и/или ко-тримоксазола в схеме лечения
Чрезмерное употребление алкоголя
Наличие злокачественного новообразования, связанного с ВИЧ-инфекцией
Наличие сопутствующего аутоиммунного заболевания

### Лечение нейтропении у ВИЧ-больных

Приоритетной терапевтической рекомендацией относительно нейтропении у ВИЧ-положительных пациентов является АРТ. При этом предпочтительным является выбор линии терапии, не содержащей зидовудин. В норме Г-КСФ играет главную роль в поддержании гомеостаза гранулоцитов, также будучи центральным фактором при развитии лейкоцитоза инфекционных и воспалительных процессов. Помимо чисто стимулирующего пролиферацию эффекта, молекула также оказывает активирующее действие на хемотаксис, адгезию, метаболизм кислорода, фагоцитоз и т.д. Данные эффекты особенно примечательны, так как потеря нейтрофилами их качественных свойств при инфицировании ВИЧ играет важную роль в повышении риска бактериемий. Учитывая положительное влияние на качественную и количественную стороны нейтропении, применение Г-КСФ выглядит очевидным. Другим стимулирующим агентом с аналогичным в отношении нейтрофилов действием является гранулоцитарный макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) [36,37].

### ВИЧ и миелодиспластический синдром

Миелодиспластический синдром (МДС) – поражение костного мозга, связанное с неэффективным кроветворением, цитопениями и склонностью к трансформации в острый миелоидный лейкоз. Наблюдая значительное количество необъяснимых двух/трехлинейных цитопений у пациентов с ВИЧ, связь между заболеваниями остается неясной из-за недостатка данных в литературе.

У ВИЧ-инфицированных часто проявляется цитопения, особенно на фоне неконтролируемой вiremии и хронических инфекций. До появления антиретровирусной терапии (АРТ) анемия, нейтропения и тромбоцитопения отмечались примерно у 70%, 50% и 40% больных СПИДом соответственно. Несмотря на то, что частота цитопений значительно снизилась в эпоху высокоактивной АРТ, она по-прежнему является частой находкой у ВИЧ-позитивных пациентов. На самом деле, МДС является наиболее распространенной причиной необъяснимой цитопении и диагностируется с большей частотой из-за включения секвенирования и других генетических тестов во время диагностической работы. Известно также, что ВИЧ связан с развитием диспластических



изменений в костном мозге, но причина и исходы этих случаев до конца не изучены [38-40].

В одноцентровом исследовании в Медицинском центре Монтефиоре (ММС) в период с 1997 по 2016 год была проанализирована самая большая группа ВИЧ-инфицированных пациентов с МДС, о которой сообщалось на сегодняшний день, и изучено клиническое значение соматических мутаций при молекулярном анализе у ВИЧ-инфицированных пациентов [41].

Этот ретроспективный анализ показывает, что ВИЧ является плохим прогностическим признаком у пациентов, у которых впоследствии развивался МДС. Пациенты с ВИЧ, у которых диагностировали МДС в более молодом возрасте, имеют худший общий прогноз, более высокий риск трансформации в ОМЛ, более быструю трансформацию из МДС в ОМЛ и повышенную распространенность соматических мутаций с более высоким риском и цитогенетических изменений. Кроме того, несмотря на то что они были моложе и изначально подходили для интенсивной химиотерапии, ни один из пациентов не получил терапии с лечебной целью, такой как ТГСК.

Мы заметили, что высокая доля ВИЧ+ пациентов, у которых развивается МДС, имеет делецию хромосомы 7 либо отдельно, либо как часть сложного карิโอ типа. Существует несколько патофизиологических гипотез, объясняющих развитие ОМЛ или МДС у ВИЧ-инфицированных пациентов [42,43].

Поскольку ВИЧ сопровождается воспалительной средой стромы костного мозга, вполне возможно, что эта микросреда способствует росту и развитию клеток, инициирующих МДС, и приводит к клиническим проявлениям в более молодом возрасте. Клональный гемопоэз с приобретением соматических мутаций, который обычно происходит с возрастом, также вовлечен в развитие МДС. Давно предполагалось, что у пациентов с ВИЧ наблюдается ускоренное старение и, таким образом, развивается больше сопутствующих заболеваний, чем можно было бы ожидать для их возраста. ВИЧ-инфицированные пациенты с МДС имеют повышенный риск соматических мутаций высокого риска, включая ASXL1, TP53 и DNMT3A, а также высокую и быструю скорость трансформации в ОМЛ, что указывает на необходимость дальнейшего анализа, включая более масштабные эпидемиологические исследования [44].

### **Обсуждение**

Анализируя исследования, посвященные изучению цитопении при ВИЧ, мы обнаружили, что АРТ – это эффективный метод лечения цитопенического синдрома. Наряду с восстановлением CD4+ Т-клеток, уровни клеток крови (нейтрофилов, тромбоцитов и эритроцитов) также повышались. Женский пол, низкий уровень CD4+ Т-клеток (исходно), продвинутая стадия и коинфекция ВГВ были факторами риска развития персистирующей цитопении после на-

чала АРТ, что свидетельствует о важности раннего начала терапии у пациентов с цитопенией при ВИЧ-инфекции. Было проведено большое количество исследований распространенности анемии, тромбоцитопении, лейкопении и нейтропении, которые показали, что у ВИЧ-1-инфицированных пациентов более часто наблюдается снижение двух или трех линий клеток крови. Панцитопения была связана с более высокой смертностью. Наиболее распространенным типом цитопении является уницитопения, за которой следуют бицитопения и панцитопения. Среди уницитопений нейтропения наиболее распространенная цитопения, а нейтропения и анемия более распространенные бицитопении.

CD4 <200 клеток, поздняя клиническая стадия ВОЗ, более высокая вирусная нагрузка ВИЧ, возраст ≥40 лет, и коинфекция ВГВ на исходном уровне оцениваются как факторы риска цитопенического синдрома и после начала АРТ. Связь низкого количества клеток CD4 с цитопенией может быть объяснена влиянием ВИЧ на функцию ранних гемопоэтических клеток-предшественников. Исследования показывают, что доля нейтропении, анемии и тромбоцитопении уменьшается после комплаентного шестимесячного приема АРТ. Разрешение цитопении у большинства пациентов связано с восстановлением уровня CD4+ Т-клеток, что указывает на то, что подавление вируса и иммунологическое восстановление могут способствовать нормализации клеток крови. Низкий уровень CD4+ Т-клеток и поздняя стадия перед началом АРТ являются предикторами персистирующей цитопении после 24 месяцев АРТ.

Даже в эпоху широко распространенной антиретровирусной терапии у 35% ВИЧ-инфицированных пациентов выявляется анемический синдром. До 18% ВИЧ-инфицированных пациентов могут иметь положительную пробу Кумбса, но клинически значимая аутоиммунная гемолитическая анемия встречается редко. Дефицит витамина В12 может возникнуть у 30% пациентов, вероятно, в результате нарушений, связывающих В12 белков и транспорта в сыворотке. Положительный прямой антиглобулиновый тест может быть у трети ВИЧ-инфицированных и связан с анемией, особенно при более поздних стадиях ВИЧ-инфекции. Инфекция парвовирусом В19 может вызывать преходящую эритроцитарную аплазию или хроническую анемию у ВИЧ-инфицированных лиц из-за неспособности вырабатывать нейтрализующие антитела. Диагноз парвовирусной инфекции необходимо заподозрить при длительно сохраняющейся нормоцитарной анемии с отсутствием ретикулоцитов и подтвердить с помощью ПЦР-анализа. При железодефицитной анемии желательно выполнить исследование на скрытую кровь в кале, наличие которой может свидетельствовать о опухолевом поражении желудочно-кишечного тракта.

Макроцитарные анемии при СПИДе нередко являются результатом хронического заболевания печени, связанного с хроническим алкоголизмом или гепатитом, особенно при инъекционном употреблении наркотиков. Иногда они также могут быть результатом использования препаратов, действующих как антагонисты фолиевой кислоты (триметоприм сульфаметоксазол).

Определяется повышенная частота диагностирования тромбоцитопении с числом тромбоцитов <150 000/мкл у пациентов с ВИЧ-инфекцией, но менее 1% из них имеют тяжелую ВИЧ ассоциированную тромбоцитопению с числом тромбоцитов <50 000/мкл. Риск появления тромбоцитопении увеличивается с уменьшением числа лимфоцитов CD4+. Снижение тромбоцитов редко бывает достаточно серьезным, чтобы вызвать спонтанное кровотечение.

Нейтропения, как правило, прогрессирует по мере увеличения продолжительности ВИЧ-инфекции. Нейтропения часто является частью панцитопении у ВИЧ-инфицированных пациентов. Абсолютная нейтропения <1000/мкл, часто со сдвигом влево, наиболее вероятна, когда количество CD4+ снижается до 30/мкл. Хотя эпизоды нейтропии обычно длятся <2 недель, nadir может достигать 500/мкл почти в половине случаев. У части пациентов нейтропения может возникать на ранних стадиях ВИЧ-инфекции и увеличивает риск заражения оппортунистическими инфекциями, что ухудшает прогноз заболевания.

Раннее начало АРТ и комплексный мультидисциплинарный подход к лечению ВИЧ-инфекции способствуют восстановлению подавленного иммуни-

тета и, чаще всего, уменьшают степень цитопении.

### Заключение

Тяжесть цитопений (за исключением тромбоцитопении) у пациентов, инфицированных ВИЧ, обычно связана с прогрессирующей стадией заболевания. Таким образом, клиницисты должны иметь высокий индекс подозрения на возможную ВИЧ-инфекцию у любого пациента с цитопенией. Причина цитопений на фоне ВИЧ-инфекции обычно многофакторная. У пациентов без лихорадки и с бессимптомным течением заболевания причиной цитопенического синдрома может быть сам ВИЧ. Предполагаемые механизмы ВИЧ-нарушения кроветворения включают механизмы, не связанные с взаимодействием ВИЧ (например, вызванные лекарственными препаратами и/или коинфекцией), косвенное влияние ВИЧ на ГСК (например, вызванные ВИЧ изменения в циткиновой сигнальной среде) и механизмы, в которых ВИЧ непосредственно воздействует на функционирование и выживаемость ГСК (например, прямое инфицирование ГСК ВИЧ). Диагностические исследования цитопений должны быть рациональными, с тщательным использованием анамнеза и клинического обследования вместе с логичным пошаговым использованием лабораторных тестов до того, как будет рассмотрен вопрос о взятии образцов костного мозга. Наконец, необходимы дальнейшие исследования для выяснения взаимодействия между ВИЧ и ГСК. Лучшее понимание этих взаимодействий может способствовать раскрытию потенциала генетически модифицированных клеточных методов лечения пациентов, инфицированных ВИЧ.

### Список литературы:

1. Pathology of HIV/AIDS 33rd Edition by Edward C. Klatt, MD Professor of Pathology Department of Biomedical Sciences Mercer University School of Medicine Savannah, Georgia, USA May 24, 2022.
2. Lina Fan., Cuilin Li., Hongxin Zhao. Prevalence and Risk Factors of Cytopenia in HIV-Infected Patients before and after the Initiation of HAART // BioMed Research International. – 2020. Article ID 3132589. <https://doi.org/10.1155/2020/3132589>.
3. Kyeyune R., Saathoff E., Ezeamama A. E. et al. Prevalence and correlates of cytopenias in HIV-infected adults initiating highly active antiretroviral therapy in Uganda // BMC Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 14, N 1. – P. 496.
4. Tamir Z., Alemu J., Tsegaye A. Anemia among HIV infected individuals taking art with and without zidovudine at Addis Ababa, Ethiopia // Ethiopian Journal of Health Sciences. – 2018. – Vol. 28, N 1. – P. 73–82.
5. Durandt C., Potgieter J.C., Mellet J. et al. HIV and haematopoiesis // S Afr Med J. – 2019. – Vol. 109, N 8b. – P. 40-45.
6. Alkhatib G. The biology of CCR5 and CXCR4 // Curr Opin HIV AIDS. – 2009. – Vol. 4, N 2. – P. 96-103.
7. Avalos R., Essex M. Infection of hematopoietic progenitor cells by HIV-1 subtype C, and its association with anemia in southern Africa // Blood. – 2007. – Vol. 110, N 9. – P. 3143-3149.
8. Gill V., Shattock R.J., Freeman A.R. et al. Macrophages are the major target cell for HIV infection in long term marrow culture and demonstrated dual susceptibility to lymphocytotropic and monocytotropic strains of HIV-1 // Br J Haematol. – Vol. 1996. – Vol. 93, N 1. – P. 30-37.
9. Isgro A., Audi A., Leti W. et al. Immunodysregulation of HIV disease at bone marrow level // Autoimmune Rev. – 2005. – Vol. 4, N 8. – P. 486-490.
10. Saif M.W. HIV-associated autoimmune hemolytic anemia: An update // AIDS Patient Care STDS. – 2001. – Vol. 15, N 4. – P. 217-224.

11. Marchionatti A., Parisi M.M. Anemia and thrombocytopenia in people living with HIV/AIDS: a narrative literature review // *Int Health*. – 2021. – Vol. 13, N 2. – P. 98-109.
12. Madzime M., Rossouw T.M., Theron A.J., Anderson R. Steel H.C. Interactions of HIV and Antiretroviral Therapy With Neutrophils and Platelets // *Front Immunol*. – 2021. – Vol. 12. Published online 2021 Mar 12. doi: 10.3389/fimmu.2021.634386
13. Paltiel O., Falutz J., Veilleux M., Rosenblatt D.S., Gordon K. Clinical correlates of subnormal vitamin B12 levels in patients infected with the human immunodeficiency virus // *Am J Hematol*. – 1995. – Vol. 49, N 4. – P. 318–322.
14. Obirikorang C., Issahaku R.G., Osakonor D.N., Osei-Yeboah J. Anaemia and iron homeostasis in a cohort of HIV-infected patients: a cross-sectional study in Ghana // *AIDS Res Treat*. – 2016; 2016: 1623094. Published online 2016 Mar 22. doi: 10.1155/2016/1623094
15. Volberding P.A., Levine A.M., Dieterich D. et al. Anemia in HIV infection: clinical impact and evidence-based management strategies // *Clin Infect Dis*. – 2004. – Vol. 38, N 10. – P. 1454–1463.
16. Sanyaolu A.O., Fagbenro-Beyioku A.F., Oyibo W.A., Badaru O.S., Onyeabor O.S, Nnaemeka C.I. Malaria and HIV co-infection and their effect on haemoglobin levels from three health-care institutions in Lagos, southwest Nigeria // *Afr Health Sci*. – 2013. – Vol. 13, N 2. – P. 295–300.
17. Adediran A., Osunkalu V., Wakayama T. et al. Impact of HIV infection and zidovudine therapy on RBC parameters and urine methylmalonic acid levels // *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. – 2016;2016:5210963. Published online 2016 Feb 24. doi: 10.1155/2016/5210963
18. Henry D.H., Dahl N.V., Auerbach M., Tchekmedyian S., Laufman L.R. Intravenous ferric gluconate significantly improves response to epoetin alfa versus oral iron or no iron in anemic patients with cancer receiving chemotherapy // *Oncologist*. – 2007. – Vol. 12, N 2. – P. 231–242.
19. O'Lone E.L., Hodson E.M., Nistor I., Bolignano D., Webster A.C., Craig J.C. Parenteral versus oral iron therapy for adults and children with chronic kidney disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2019;2:CD007857.
20. Анемии. Краткое руководство для практических врачей всех специальностей / под. ред. О.А. Рукавицына. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 352 с.
21. Vishnu P., Aboulafia D.M. Haematological manifestations of human immune deficiency virus infection // *Br J Haematol*. – 2015. – Vol. 171, N 5. – P. 695–709.
22. Nascimento F.G., Tanaka P.Y. Thrombocytopenia in HIV-infected Patients // *Indian J Hematol Blood Transfus*. – 2012. – Vol. 28, N 2. – P. 109–111.
23. Ambler K.L., Vickars L.M., Leger C.S. Clinical features, treatment, and outcome of HIV-associated immune thrombocytopenia in the HEART Era // *Adv Hematol*. – 2012; 2012:910954. Published online 2012 May 28. doi: 10.1155/2012/910954
24. Taremwa IM, Muyindike WR, Muwanguzi E, Bouml, 2nd Natukunda B. Prevalence of HIV-related thrombocytopenia among clients at Mbarara Regional Referral Hospital, Mbarara, southwestern Uganda // *J Blood Med*. – 2015 Vol. 6. – P. 109–113.
25. Gibellini D, Clara, Moroni S, Miserocchi A, Ponti C, Re MC. Effects of human immunodeficiency virus on the erythrocyte and megakaryocyte lineages. *World J Virol*. 2013;2(2):91–101.
26. Scaradavou A. HIV-related thrombocytopenia // *Blood Rev*. – 2002. – Vol. 16, N 1. – P. 73–76.
27. Ciernik I.F., Cone R.W., Fehr J., Weber R. Impaired liver function and retroviral activity are risk factors contributing to HIV-associated thrombocytopenia // *Swiss HIV Cohort Study AIDS*. – 1999. – Vol. 13, N 14. – P. 1913–1920.
28. Neunert C., Terrell D.R., Arnold D.M. et al. American Society of Hematology 2019 guidelines for immune thrombocytopenia // *Blood Adv*. – 2019. – Vol. 3, N 23. – P. 3829-3866.
29. Katembe C., Muzoo R., Muwanguzi E. et al. Hematological abnormalities in HIV-antiretroviral therapy naïve clients as seen at an immune suppression syndrome clinic at Mbarara Regional Referral Hospital, southwestern Uganda // *J Blood Med*. – 2018. – Vol. 9. – P. 105-110.
30. Ramsuran V., Kulkarni H., He W. et al. Duffy-null-associated low neutrophil counts influence HIV-1 susceptibility in high-risk South African black women // *Clin Infect Dis*. – 2011. – Vol. 52, n 10. – P. 1248-1256.
31. Shi X., Sims M.D., Hanna M.M. et al. Neutropenia during HIV infection: adverse consequences and remedies // *Int Rev Immunol*. – 2014. – Vol. 33, N 6. – P. 511-536.
32. Pitrak D.L., Bak P.M., DeMarais P., Novak R.M., Andersen B.R. Depressed neutrophil superoxide production in human immunodeficiency virus infection // *J Infect Dis*. – 1993. – Vol. 167, N 6. – P. 1406-1410.
33. Hakawi A.M., Alrajhi A.A. Tuberculosis of the bone marrow: clinicopathological study of 22 cases from Saudi Arabia // *Int J Tuberc Lung Dis*. – 2006. – Vol. 10. – P. 1041–1044.
34. Jaresko G.S. Etiology of neutropenia in HIV-infected patients // *Am J Health Syst Pharm*. – 1999. – Vol. 56, Suppl 5. – P. S5-S8.

35. Rubinstein D.B., Farrington G.K., O'Donnell C. et al. Autoantibodies to leukocyte alphaMbeta2 integrin glycoproteins in HIV infection // *Clin Immunol.* – 1999. – Vol. 90. – P. 352–359.
36. Hermans P, Rozenbaum W, Jou A, et al. Filgrastim to treat neutropenia and support myelosuppressive medication dosing in HIV infection. G-CSF 92105 Study Group. *AIDS.* 1996; 10:1627–1633. [PubMed: 8970682]
37. Kuritzkes D.R., Parenti D., Ward D.J. et al. Filgrastim prevents severe neutropenia and reduces infective morbidity in patients with advanced HIV infection: results of a randomized, multicenter, controlled trial. G-CSF 930101 StudyGroup // *AIDS.* – 1998. – Vol. 12, N 1. – P. 65-74.
38. Firnhaber C., Smeaton L., Saukila N. et al. Comparisons of anemia, thrombocytopenia, and neutropenia at initiation of HIV antiretroviral therapy in Africa, Asia, and the Americas // *Int J Infect Dis.* – 2010. – Vol. 14. – P. e1088–e1092.
39. Aiswal S., Fontanillas P., Flannick J. et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes // *N Engl J Med.* – 2014. – Vol. 371. – P. 2488–2498.
40. Chelucci C, Hassan HJ, Locardi C, et al. In vitro human immunodeficiency virus-1 infection of purified hematopoietic progenitors in single-cell culture // *Blood.* – 1995. – Vol. 85. – P. 1181–1187.
41. Kaner J.D., Thibaud S., Jasra S. et al. HIV portends a poor prognosis in myelodysplastic syndromes // *Leukemia & Lymphoma.* – 2019. – Vol. 60. <https://doi.org/10.1080/10428194.2019.1633631>.
42. Woll P.S., Chowdhury O. et al. Myelodysplastic syndromes are propagated by rare and distinct human cancer stem cells in vivo // *Cancer Cell.* – 2014. – Vol. 25. – P. 794–808.
43. Jan M., Snyder T.M., Corces-Zimmerman M.R. et al. Clonal evolution of preleukemic hematopoietic stem cells precedes human acute myeloid leukemia // *Sci Transl Med.* -2012. – Vol. 4. – P. 149- 158.
44. De Francesco D., With F.W., Burkle A. et al. Do people living with HIV experience greater age advancement than their HIV-negative counterparts? // *AIDS.* – 2019. – Vol. 33. – P. 259–268.

VIII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С  
МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ  
«АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ИММУНОГЕНЕТИКИ В ТРАНСПЛАНТАЦИИ  
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ»  
8-9 ИЮНЯ 2023 ГОДА

*А.Р. Абдрахимова, С.П. Хижинский, Е.П. Кузьминова, Е.А. Леонов, Е.Г. Хамаганова*

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ HLA-ГАПЛОТИПОВ DRB1-DRB3/DRB4/DRB5  
У ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РЕГИСТРА  
ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ

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

**Введение.** В настоящее время в России селекция неродственного донора для трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) проводится по 5 классическим HLA-генам A, B, C, DRB1, DQB1. Варианты гена DRB1 определяют наличие или отсутствие генов DRB3, DRB4, DRB5 в гаплотипе. Ген DRB1 присутствует в каждом HLA-гаплотипе, HLA-гаплотипы могут обладать вторым геном DRB (DRB3/4/5) в зависимости от того, какой аллель DRB1 присутствует. Несмотря на то, что гены DRB3, DRB4 и DRB5 характеризуются низкой экспрессией, они могут оказывать влияние на результаты частично-совместимых алло-ТГСК, вследствие кумулятивного эффекта несовпадений. Оценка разнообразия HLA-гаплотипов DRB1-DRB3/DRB4/DRB5 дает представление о наличии второго гена DRB в гаплотипе и необходимости дообследования по генам DRB3/DRB4/DRB5 при подборе пар донор-реципиент для алло-ТГСК.

**Цели исследования** – установление частот гаплотипов HLA-DRB1-DRB3/DRB4/DRB5 у доноров гемопоэтических стволовых клеток регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии».

**Материалы и методы.** Исследование включало 3485 доноров гемопоэтических стволовых клеток регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии», которые были генотипированы по локусам HLA, для подсчета частот гаплотипов использовали гены DRB1, DRB3/DRB4/DRB5. Экстракцию ДНК проводили из венозной крови, взятой в пробирки с ЭДТА, с помощью станции выделения QIAGEN QIAcube (Германия) и коммерческих наборов QIAGEN QIAamp DNA Blood Mini Kit (250) (Германия) в соответствии с рекомендациями производителя. HLA-типирование проводили методом секвенирования следующего поколения – NGS (Next-Generation Sequencing). Подготовку библиотек проводили с помощью наборов для секвенирования OneLamda AllType FASTplex NGS (США). Секвенирование проводилось на платформе Illumina MiSeq (США). Анализ полученных последовательностей проводился с помощью программного обеспечения TypeStream Visual Software (TSV) (One Lambda, США) и базы данных IPD-IMGT/HLA. Частоты гаплотипов DRB1-DRB3/DRB4/DRB5 у доноров регистра опре-

делялись с помощью алгоритма максимизации ожидания и программного обеспечения Arlequin 3.5.2.2.

**Результаты.** У 3485 доноров регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии», на уровне двух полей и/или Р-групп было выявлено 57 аллелей гена DRB1. Среди аллелей DRB1 с высокой частотой встречались 3 аллеля: DRB1\*07:01 – 14%, DRB1\*15:01 – 12%, DRB1\*01:01 – 11%. С частотой от 5% до 10% встречались DRB1\*03:01 – 8%, DRB1\*13:01 – 7%, DRB1\*11:01 – 6%, DRB1\*11:04 – 5%. Среди 110 возможных сочетаний аллелей генов DRB1 и DRB3/DRB4/DRB5 установлено 11 гаплотипов с генами DRB1\*01, DRB1\*08, DRB1\*10, в которых нет генов DRB3/DRB4/DRB5, а также 99 HLA-гаплотипов DRB1-DRB3/DRB4/DRB5, содержащих 2 гена, при этом наличие одного из генов DRB3/DRB4/DRB5 исключает присутствие двух других. С наибольшей частотой встречались HLA-гаплотипы: DRB1\*15:01-DRB5\*01:01P – 12%, DRB1\*07:01-DRB4\*01:03 – 8%, DRB1\*03:01-DRB3\*01:01P – 6% и DRB1\*11:01-DRB3\*02:02P – 6%. Частоты встречаемости остальных установленных HLA-гаплотипов менее 5%. В исследуемой когорте ген DRB1\*15:01 встречался только в сочетании с DRB5\*01:01P. Снижение частоты встречаемости HLA-гаплотипа DRB1\*07:01-DRB4\*01:03 в сравнении с частотой аллеля DRB1\*07:01 происходит из-за разнообразия аллелей гена DRB4\*01, которые могут «цепляться» за DRB1\*07:01. Один из таких вариантов – нулевой (неэкспрессирующийся) аллель DRB4\*01:03:01N. HLA-гаплотип DRB1\*07:01-DRB4\*01:03:01N – второй по частоте среди возможных сочетаний DRB1\*07-DRB4\*01 с частотой встречаемости 3,7%.

**Выводы.** Установленные частоты HLA-гаплотипов DRB1-DRB3/DRB4/DRB5 показывают, что 78% гаплотипов имеют два гена DRB (DRB1 и DRB3/DRB4/DRB5). Большим с показанием к алло-ТГСК и их донорам, у которых в обоих HLA-гаплотипах имеются гены DRB1\*01, DRB1\*08 или DRB1\*10, идентификация генов DRB3/DRB4/DRB5 не требуется, в остальных случаях рекомендуется дообследование пар донор-реципиент по генам DRB3/DRB4/DRB5 для минимизации риска развития посттрансплантационных осложнений.

*С. В. Гавровская, Н. В. Минеева, Е. А. Сысоева*

ОПЫТ СОЗДАНИЯ БАЗЫ ДАННЫХ ДОНОРОВ КРОВИ,  
ТИПИРОВАННЫХ ПО АНТИГЕНАМ ТРОМБОЦИТОВ

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медицинского агентства России», г. Санкт-Петербург*

**Введение.** На мембране тромбоцитов присутствуют антигены систем ABO, Левис, I, i, P, HLA (класса I). Однако тромбоцитам свойственно наличие и своих собственных тромбоцит-специфичных антигенов HPA (Human Platelet Antigens). В настоящее время подбор реципиентам донорских тромбоцитов осуществляется с учетом ABO и Rh-принадлежности, антиген-

ный состав тромбоцитов донора и реципиента не учитывается. При многократных трансфузиях у некоторых пациентов может наблюдаться отсутствие прироста тромбоцитов в крови и гемостатического эффекта (рефрактерность), вызванного сенсибилизацией реципиента антигенами тромбоцитов донора и появлением иммунных антитромбоцитарных и анти-HLA анти-

тел. Антитела против специфических антигенов тромбоцитов, вызывающие в дальнейшем трансфузионную рефрактерность, встречаются у 20-25% пациентов даже при трансфузиях тромбоцитов, совместимых по антигенам системы HLA. В таких случаях для достижения лечебного эффекта необходимы тромбоциты донора, совместимые с тромбоцитами реципиента по антигенному составу. С 90-х годов HPA-типирование проводилось серологическими методами, в которых используются моноспецифические антитела. Доступность моноспецифических антител ограничивалась тем, что большинство иммунизированных лиц вырабатывали как анти-HPA антитела, так и анти-HLA антитела класса I одновременно, поэтому многие лаборатории могли определять только антиген HPA-1a. В последние годы разработаны и применяются молекулярно-генетические методы, основанные на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР). Это стало возможным в результате выяснения молекулярных основ полиморфизма генов системы HPA, связанного с заменой одной аминокислоты и, соответственно, одного нуклеотидного звена. В популяции белых европейцев частота аллелей большинства генов системы HPA отклоняется в сторону «а» аллеля, а гомозиготы по «b» составляют около 0 – 15 %. Создание базы данных доноров крови, типированных по тромбоцитарным антигенам, даст возможность подбора пары донор/реципиент для результативности терапии у пациентов с рефрактерностью.

С 2018 г в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России создается база доноров крови, типированных по аллелям локусов HPA1, HPA2, HPA3, HPA4, HPA5, HPA6, HPA9, HPA15.

**Цель.** Изучить встречаемость редких аллелей генов HPA у доноров крови ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

*Е.В. Глаз<sup>1</sup>, О.А. Мишкова<sup>2</sup>, И.А. Искров<sup>1</sup>, А.А. Алексейчик<sup>2</sup>, А.Л. Усс<sup>1</sup>, Н.В. Минаковская<sup>2</sup>*

## ОПЫТ РАБОТЫ ЦЕНТРАЛЬНОГО РЕЕСТРА ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В 2018-2022 ГГ.

<sup>1</sup>Государственное учреждение «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», г. Минск, Беларусь.

<sup>2</sup>Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», д. Боровляны, Минский р-н, Беларусь.

**Введение.** Признанный в 1960-х годах XX столетия неэффективным метод аллогенной неродственной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в настоящее время является золотым стандартом оказания помощи при лечении злокачественных гематологических, некоторых онкологических и иммунологических заболеваний. В Республике Беларусь накоплен немалый опыт в данной области, а также достигнуты показатели эффективности, соизмеримые с общемировыми.

Однако до 2013 г. учреждения Республики Беларусь, оказывающие помощь пациентам с заболеваниями, требующими для своего лечения проведения ТГСК, были вынуждены пользоваться услугами иностранных лабораторий и донорских регистров для обеспечения собственных потребностях в тканевом типировании, поиске и подборе совместимых неродственных доноров. Внедрение методик HLA-типирования в лабораторную практику, а также создание в 2013 г. Центрального реестра доноров ГСК позволило повысить доступность проведения аллогенной ТГСК в Республике Беларусь.

**Цель.** Проанализировать опыт работы Центрального реестра доноров ГСК в период с 2018 по 2022 гг.

**Материалы и методы.** Исследование выполнялось по результатам работы координаторов по поиску доноров Минского научно-практического центра хирургии, трансплантологии и гематологии и Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии в течение 2018-2022 гг.

**Результаты.** В настоящее время база данных Центрального реестра доноров гемопоэтических стволовых клеток насчи-

**Материалы и методы.** Обследован 471 донор крови ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. В составе группы 139 женщин и 332 мужчины. Медиана возраста составила 43 года. Аллели локусов HPA1, HPA2, HPA3, HPA4, HPA5, HPA6, HPA9, HPA15 определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на анализаторе FluoVista (Inno-Train, Германия), используя набор реактивов HPA-FluoGene (Inno-Train, Германия). Выделение геномной ДНК осуществляли с помощью комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» (AmpliSens, Россия) из цельной крови, взятой в пробирку с 5% К2ЭДТА.

**Результаты.** Генотипы обследованных доноров распределились следующим образом: HPA-1a/a – 68,4%, HPA-1a/b – 28,7%, HPA-1b/b – 2,9%; HPA-2a/a – 84,9%, HPA-2a/b – 14,9%, HPA-2b/b – 0,2%; HPA-3a/a – 30,1%, HPA-3a/b – 50,7%, HPA-3b/b – 19,2%; HPA-5a/a – 82,6%, HPA-5a/b – 15,5%, HPA-5b/b – 1,9%; HPA-6a/a – 98,9%, HPA-6a/b – 1,1%, HPA-6b/b – не встречался; HPA-9a/a – 99,6%, HPA-9a/b – 0,4%, HPA-9b/b – не встречался; HPA-15a/a – 28,0%, HPA-15a/b – 52,9%, HPA-15b/b – 19,1%. По аллелю «а» локуса HPA-4 все обследованные доноры были гомозиготны, аллель «b» не встречался. В локусах HPA-6 и HPA-9 аллель «b» встречался реже всего и обнаружен только у 1,1% и 0,4% соответственно. Полученные данные согласуются с результатами российских и зарубежных авторов, изучающих частоту встречаемости аллелей генов HPA среди белых европейцев.

**Выводы.** Изучен антигенный состав тромбоцитов и проанализирована встречаемость редких аллелей генов HPA у доноров ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Планируется дальнейшая работа по исследованию редко встречающихся антигенов тромбоцитов и расширению базы доноров, что позволит подбирать донорские тромбоциты для реципиентов с рефрактерностью.

тывает 92100 потенциальных доноров. Разумеется, что такого объема недостаточно, чтобы в полной мере компенсировать потребность белорусских клиник, выполняющих аллогенные неродственные трансплантации пациентам всех возрастов, в связи с чем Центральный реестр доноров ГСК выполняет масштабную работу по поиску совместимых доноров в регистрах других стран (Российская Федерация, Казахстан, Германия, Польша, Израиль, Турция, Швейцария, Нидерланды, Чехия и т.д.).

До сих пор основными источниками донорских стволовых клеток для пациентов из Беларуси являются Германия и Польша, где общее количество доноров, включенных в международные регистры, превосходит 9 миллионов.

Так из 136 аллогенных неродственных трансплантаций 116 были выполнены с использованием донорского материала из этих стран, что составило 85% от общего количества аллогенных ТГСК, выполненных в Республике Беларусь. Ещё три процедуры (2%) были выполнены от доноров из других стран (России и Великобритании).

Доля ТГСК, проведенных с привлечением белорусских доноров, составила 13% (17 трансплантаций). С одной стороны, этот показатель в 2,4 раза превысил аналогичный за период 2013-2017 гг., когда от белорусских доноров было выполнено 7 процедур. С другой, этот показатель всё ещё далёк от того уровня, на котором возможно полное закрытие клинической потребности в донорах в Республике Беларусь.

Объяснить такой низкий процент нахождения совместимых пар «донор-пациент» можно не только небольшим относительно международных регистров количеством доноров в Центральном

реестре доноров ГСК, но и существенным усилением миграционных процессов внутри страны и за её пределами, в результате чего часть доноров, включенных в базу, стала недоступна, а также ограниченностью фенотипического разнообразия доноров.

**Выводы.** В настоящее время Центральный реестр доноров ГСК сталкивается с необходимостью поиска способов популяризации донорства для привлечения новых потенциальных доноров и расширения базы данных активных доноров. Кроме того,

требует эффективного решения проблема актуализации уже имеющихся в регистре сведений.

Отдельным направлением работы Центрального реестра доноров ГСК можно считать углубление партнёрства с донорскими регистрами Российской Федерации при наличии взаимной заинтересованности. Российское направление сотрудничества является наиболее перспективным с точки зрения организации процесса и исследований в данной области.

*Л. А. Грачева, Л. В. Петрова, М. Н. Латышева, А. Л. Румянцев*

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ИММУНОГЕНЕТИКИ ПРИ ПЕРЕСАДКЕ ПОЧЕК, РОЛЬ АНТИ-HLA АНТИТЕЛ

*Обособленное структурное подразделение «Российская детская клиническая больница» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва*

**Введение:** число детей с предрасполагающими анти-HLA антителами увеличивается.

**Цель:** изучить влияние разного уровня предрасполагающих и посттрансплантационных анти-HLA антител на успех трансплантации почек.

**Материалы и методы:** по результатам наших исследований (2011–2022 гг.), после операции наблюдалось 320 пациентов с почечной трансплантацией от умершего донора. Предварительное исследование аллосенсибилизации включало скрининг антител против HLA класса I и II класса с помощью анализа с использованием микросфер (технология Luminex 200, MFI) с учетом панель-реактивных антител (PRA). В исследование было включено 124 ребенка с cPRA  $\geq 50\%$  и 196 детей с PRA  $\leq 50\%$ .

Результаты: все дети с cPRA были разделены на 2 группы в зависимости от уровня cPRA ( $\leq 50\%$ ,  $\geq 50\%$ ). Степень клубочковой почечной фильтрации (СКФ) (Schwartz) оценивалась у детей (cPRA = 0%, cPRA  $\leq 50\%$ ; cPRA  $\geq 50\%$ ) через 1, 6, 12, 18, 24 месяцев после трансплантации. СКФ почечного трансплантата у детей с cPRA  $\leq 50\%$  не отличается от пациентов без предрасполагающих анти-HLA антител в течение 2 лет после трансплантации ( $p \geq 0,05$ ; Kruskal-Wallis ANOVA). СКФ трансплантата детей с cPRA  $\geq 50\%$  была хуже, чем у пациентов без предрасполагающих анти-HLA антител, начиная с 1 месяца после трансплантации. СКФ клубочковой фильтрации у детей, которые получали для отмены острого, опосредованного антителами отторжения (ABMR) метилпреднизолон в виде пульс-терапии и внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ), была стабильной до 6 месяцев после лечения (73,45 мл/мин), но затем СКФ снижалась (59,8 мл/мин, 48,8 мл/мин, 42,1 мл/мин, 40, 2 мл/мин в 6, 12, 18 и 24 мес., соответственно). ABMR

развилось у 20 детей. У всех пациентов был стандартный протокол иммуносупрессии (индукция с антигитимокитарным глобулином (АТГ) и метилпреднизолоном, введение ингибиторов кальциневрина, микрофенолята мофетила (ММФ), преднизолона). Частота ABMR была выше у пациентов с высоким уровнем PRA. По результатам наших исследований (2011–2022 гг.), после пересадки донорской почки из 280 детей ( $13,2 \pm 0,8$  лет) у 148 детей (53,2%) выявляли de novo анти-HLA АТ к антигенам HLA II класса. Из них у 83 пациентов (56%) антитела были к антигенам локуса HLA-DQ с преобладающим профилем специфичностей: DQ2, DQ4 и DQ6, и с процентом панель-реактивных антител (cPRA) 2–18%. Из них, у семи (7,2%) пациентов данные антитела были высоко реактивными – (средняя интенсивность флуоресценции (MFI) составляла 1800–22000) и связывали C1q компонент комплемента. У одного больного анти-DQ2 антитела сочетались с анти-MIC антителами (MFI: 11000). У этих семи больных тоже развивалось ABMR трансплантата, которое характеризовалось снижением скорости клубочковой фильтрации (GFR до 28 мл/мин), повышением уровня креатинина (Сг до 193 мкмоль/л); в биоптатах почек выявляли C4d компонент комплемента. Больным с ABMR проводилась терапия для купирования ABMR. Терапия ритуксимабом, добавленным в качестве дополнительного компонента в фазу индукции иммуносупрессии у детей с предрасполагающими анти-HLA антителами (cPRA  $> 50\%$ ), уменьшала AMDR почек ( $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallis ANOVA).

**Выводы:** Высокий % PRA предрасполагающих анти-HLA антител (cPRA  $\geq 50\%$ ) влияет на функцию почечного трансплантата у детей и увеличивает риск развития антитело-опосредованного отторжения почек.

*В.К. Денисов., В.В. Захаров, Э.Э. Комисаренко, Е.В. Онищенко*

## ГАРМОНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИОННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКЕ С ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВОМ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*Донецкое клиническое территориальное медицинское объединение, Донецк*

Трансплантологическая помощь в г.Донецке оказывается с 1986 года, когда впервые, после соответствующей кадровой, материально-технической подготовки и получения официального разрешения Министерства здравоохранения СССР была выполнена трансплантация почки в Областной клинической больнице им. М.И. Калинина, ныне Донецкое клиническое территориальное медицинское объединение (ДОКТМО). В последующем, в трансплантационном центре ДОКТМО осуществлялись трансплантации почки от посмертных и родственных доноров, включая больных из группы высокого риска: детей младшего школьного и дошкольного возраста, диабетиков, пациентов с коллагенозами и другими системными заболеваниями, повтор-

ные третьи и четвертые трансплантации. Готовились условия для трансплантации печени и поджелудочной железы. В центре наблюдались пациенты после трансплантации почек, печени, сердца, кишечника, костного мозга. Эта работа продолжалась также во время затяжного военного конфликта, начавшегося в 2014 году и пандемии COVID-19.

В настоящее время на государственном уровне поставлена задача приведения региональной службы трансплантации органов в соответствие с организационными основами этой помощи в Российской Федерации. Нами проанализирован весь перечень соответствующих нормативных правовых актов и методических документов Российской Федерации. В Донецкой Народной Рес-

спублике целесообразно реализовать комплекс мер, направленных на совершенствование организации трансплантационной помощи и органного донорства с учетом рекомендаций «Национального Медицинского Исследовательского Центра (НМИЦ) Трансплантологии и Искусственных Органов имени академика В.И. Шумакова». В переходный период с 1.01.2023 до 1.01.2026 гг. необходимо утвердить обновленную дорожную карту донорства и трансплантации органов согласно Федеральному конституционному закону от 4 октября 2022 года №5-ФКЗ «О принятии в Российскую Федерацию Донецкой Народной Республики и образовании в составе Российской Федерации нового субъекта — Донецкой Народной Республики» и Федеральному закону от 17 февраля 2023 года №16-ФЗ «Об особенностях правового регулирования отношений в сферах охраны здоровья, обязательного медицинского страхования, обращения лекарственных средств и обращения медицинских изделий в связи с принятием в Российскую Федерацию Донецкой Народной Республики, Луганской Народной Республики, Запорожской области и Херсонской области».

С марта 2023 г. в соответствии с «Соглашением о взаимодействии между Министерством здравоохранения Российской Федерации и Правительством Донецкой Народной Республики в целях осуществления национальными медицинскими исследовательскими центрами организационно-методического руководства медицинскими организациями ДНР» от 25 января 2023 года

в «НМИЦ Трансплантологии и Искусственных Органов имени академика В.И. Шумакова» начата необходимая дополнительная подготовка врачей трансплантационного центра ДОКТМО. В связи с проблемами посмертного донорства особое внимание должно быть уделено тренингам для врачей анестезиологов по вопросам диагностики смерти мозга, а также оснащению отделений интенсивной терапии газовыми анализаторами, необходимыми для выполнения теста апноэтической оксигенации. В медицинских организациях ДНР необходимо назначить лиц, ответственных за осуществление медицинской деятельности, связанной с донорством органов для трансплантации, и утвердить в качестве одного из индикаторов эффективности работы главных врачей показатель «числа выявленных возможных доноров органов с диагностированной смертью мозга», а также включить в эффективный контракт ответственных лиц, в качестве основания для стимулирующих выплат за достижение целевых показателей их деятельности в области оказания трансплантационной помощи и проведения работ по донорству.

**Выводы.** По примеру Российской Федерации, значительной интенсификации трансплантационной деятельности в Донецкой Народной Республике необходимо достичь в сжатые сроки при государственной поддержке в рамках абсолютно доступных технологий, поскольку большинство аналогичных с Россией нормативных и правовых актов уже использовались в практической деятельности региона.

*О.Е. Дубова<sup>1,2</sup>, Ф.К. Шихвеледова<sup>1</sup>, М.Ю. Дроков<sup>1</sup>, Н.В. Рисинская<sup>1</sup>, А.А. Юшкова<sup>1</sup>, У.В. Масликова<sup>1</sup>, И.С. Сайдуллаева<sup>1</sup>, Д. С. Тихомиров<sup>1</sup>, Ю. А. Чабаева<sup>1</sup>, С. М. Куликов<sup>1</sup>, Л.А. Кузьмина<sup>1</sup>, А.Б. Судариков<sup>1</sup>*

## ХИМЕРИЗМ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НА +14 ДЕНЬ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК КАК КРИТЕРИЙ НЕПРИЖИВЛЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный Медицинский Исследовательский Центр гематологии Министерства здравоохранения России, г. Москва

<sup>2</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва

**Введение.** Первичная оценка молекулярного химеризма на +28 день после алло-ТГСК (аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток) значима для прогнозирования всех видов нарушения функции трансплантата. Неприживание трансплантата является основной причиной неудач при алло-ТГСК. Более ранний мониторинг химеризма может стать дополнительным инструментом для прогнозирования первичной неустойчивости трансплантата.

**Цель.** Оценить значимость донорского химеризма на +14 день для прогнозирования неприживания трансплантата после алло-ТГСК у больных ОЛ (острым лейкозом).

**Материалы и методы.** Для мониторинга химеризма использовали архивные образцы ДНК из клеток крови 36 пациентов, получивших алло-ТГСК в НМИЦ гематологии с 01.01.2020 по 21.03.2023. Критерии отбора пациентов: доступность архивного материала для проведения ретроспективного исследования химеризма, первая трансплантация от гаплоидентичного донора ( $\geq 2$  отличий по системе HLA) или неродственного частично-совместимого, диагноз ОЛ, ремиссия на момент выполнения трансплантации, режим кондиционирования пониженной интенсивности – RIC. Медиана возраста пациентов составила 38 лет (19-59), 22 (61%) женщины и 14 (39%) мужчин. Отсутствием приживания к +28 дню считали: абсолютное число нейтрофилов менее  $0,5 \cdot 10^9$ /л; гемоглобин менее 70 г/л; тромбоциты менее  $20 \cdot 10^9$ /л; донорское кроветворение 0–5%; отсутствие рецидива заболевания. Мониторинг химеризма осуществлялся методом STR-ПЦР с использованием лиофилизированного мультиплексного набора CorDIS Plus (19 полиморфных STR-маркеров и локус X/Y амелогенина человека) с последующим разделением продуктов ПЦР методом капиллярного электрофореза. Химеризм рассчитывали на основе процентного содержания уникальных маркеров донора и реципиента в информативных локусах STR с использованием программного обеспечения GeneMapper v. 4.0.

**Результаты.** Было обнаружено, что уровень донорского химеризма в образцах ПК (периферической крови) на +14 день существенно ниже в группе пациентов, у которых на +28 день было констатировано неприживание трансплантата. Для пациентов с приживлением медиана показателей химеризма составила 85% (27%-100%), без приживания 47% (0-90%), ( $p < 0,017$ ). При проведении ROC-анализа исследовалась зависимость вероятностей ошибок классификации целевого признака (неприживание на +28 день) от уровня донорского химеризма на +14 день. Было показано, что донорский химеризм 25% и ниже в крови на 14 день может выступать хорошим предиктором неприживания (AUC=0,7813,  $p=0,0048$ ). В соответствии с выбранным пороговым уровнем донорского химеризма все пациенты были разделены на 2 группы (<25%,  $\geq 25\%$ ). У пациентов с донорским химеризмом <25% неприживание констатировано в 100% случаев (3 из 3), а в группе с химеризмом больше 25% неприживание констатировано в 15% (5 из 33,  $p = 0,0078$ ). Была проанализирована группа сравнения из 20 пациентов, прошедших алло-ТГСК в НМИЦ Гематологии за период с 01.01.2020 по 21.04.2023 с критериями трансплантации: первая трансплантация от родственного и неродственного полностью совместимого донора, диагноз ОЛ, ремиссия на момент выполнения трансплантации, режим кондиционирования пониженной интенсивности – RIC. Группа сбалансирована по полу, возрасту с первой группой. Выбранный порог в 25% не является значимым критерием для предиктивной оценки неприживания трансплантата в группе с полностью совместимым донором.

**Заключение.** Уровень химеризма в ПК на +14 день с высокой степенью достоверности предсказывает неприживание трансплантата на +28 день для пациентов с ОЛ гаплоидентичным и неродственным частично-совместимым донором, при этом в группе пациентов с полностью совместимым донором не является предиктором неприживания трансплантата.



О.С. Каравеева, Е.Г. Хамаганова, М.Ю. Дроков, И.Ю. Урыбин, У.В. Масликова, Ф.А. Омарова, В.А. Васильева, М.В. Довыденко, Л.А. Кузьмина, Е.Н. Паровичникова

## ВЗАИМОСВЯЗЬ НАЛИЧИЯ АНТИ-НЛА АНТИТЕЛ С РАЗВИТИЕМ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА»

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, г. Москва

**Введение.** Хроническая реакция «трансплантат против хозяина» (хрРТПХ) является самой частой причиной поздней безрецидивной заболеваемости и последующей смертности (около 25%) пациентов, перенесших трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Патогенез хрРТПХ изучен не до конца, однако эффективность терапии, направленной на В-клеточное звено, подтверждает его участие в патогенезе. У большинства кандидатов на алло-ТГСК есть «большие» факторы риска формирования анти-НЛА антител (женский пол и множественные трансфузии в анамнезе). Хорошо известно патологическое влияние наличия донор-специфических анти-НЛА антител на развитие несостоятельности трансплантата, однако не ясно, есть ли связь между наличием анти-НЛА антител и развитием хрРТПХ.

**Цель.** Изучить взаимосвязь между наличием анти-НЛА антител до алло-ТГСК и на +90 день после алло-ТГСК и развитием хрРТПХ.

**Материалы и методы.** В исследование был включено 67 пациентов (медиана возраста 36 лет (19-59)), которым была выполнена алло-ТГСК по поводу острого лейкоза от родственного гаплоидентичного или неродственного донора. Преобладали женщины (40 чел. (60%)).

У пациентов перед выполнением алло-ТГСК и на +90 день после выполнялось исследование наличия анти-НЛА антител в сыворотке твердофазным иммунолюминесцентным анализом на платформе LUMINEX. Первым этапом проводился скрининг на наличие анти-НЛА антител к I или II классу НЛА – при медиане интенсивности флуоресценции (MFI) более 500 результат скрининга считался «положительным», и проводился анализ аллель-специфичности выявленных анти-НЛА антител.

Анализовалась взаимосвязь между наличием анти-НЛА антител (к I и II классу) по результатам скрининга, анти-НЛА ан-

тител к специфичностям I класса НЛА, анти-НЛА антител к специфичностям II класса НЛА и развитием хрРТПХ. Анализ анти-НЛА антител к конкретной специфичности был разделен на 2 этапа: на первом этапе в анализ включались анти-НЛА антитела с MFI более 750, на втором этапе анализ проводился без ограничения величины MFI, то есть все детектируемые анти-НЛА антитела, независимо от величины MFI, были учтены.

**Результаты.** Достоверной взаимосвязи между наличием исследуемых анти-НЛА антител при пороговой величине MFI более 750 и развитием хрРТПХ не выявлено. Однако при анализе без пороговой величины MFI выявлены достоверные различия на +90 день после алло-ТГСК. Так, у пациентов, у которых детектировались анти-НЛА антитела (25 человек) по результатам скрининга, достоверно чаще развивалась хрРТПХ (15 чел. (60%)), чем в группе без антител (42 человека, хрРТПХ у 13 (31%)) ( $p = 0,02$ ). Важно отметить, что эти группы значительно различались по полу – в группе с выявленными антителами преобладали женщины – 19 чел. (76%), против 20 чел. (48%) в группе без антител ( $p = 0,023$ ). Аналогичные различия получены и при анализе анти-НЛА антител к специфичностям II класса НЛА – в группе, где выявлялись антитела, достоверно чаще отмечалось развитие хрРТПХ – у 13 из 21 человека (62%) ( $p = 0,020$ ), однако в этом случае не отмечено достоверных различий по полу, хотя в группе с выявленными антителами преобладали женщины – 16 из 21 (76%),  $p = 0,052$ .

**Выводы.** Выявление на +90 день после алло-ТГСК анти-НЛА антител, выявленных по результатам скрининга, а также анти-НЛА антител ко II классу НЛА может помочь в выделении группы пациентов с более высокой вероятностью развития хрРТПХ. В пользу возможности применения подхода без пороговой величины MFI свидетельствуют полученные достоверные различия по полу.

А.Д. Касьянов, Т.В. Глазанова, И.С. Голованова

## ОЦЕНКА АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ПРОЛОНГИРОВАННОМ ГИПОТЕРМИЧЕСКОМ ХРАНЕНИИ

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

**Введение.** Тромбоциты активируются во время процедуры заготовки, обработки и хранения. Их активация связана с существенными морфофункциональными изменениями. Отличительной чертой этого процесса является дегрануляция внутренних зернистых структур тромбоцитов с последующей транслокацией молекул, ранее локализованных внутри клеток, на поверхность тромбоцитов. Примером является молекула Р-селектина (CD62P), которая хранится в альфа-гранулах тромбоцитов. Определение мембранного Р-селектина или его растворимой формы, sP-селектина, в супернатанте концентрата тромбоцитов используется для мониторинга активации тромбоцитов. Кроме того, при активации тромбоцитов происходит экстернализация фосфатидилсериновых фрагментов, локализованных на внутренней поверхности плазматической мембраны. Усиление экспрессии фосфатидилсерина связано с клеточным старением и апоптозом, и эти процессы, несомненно, отражают нарастающие изменения тромбоцитов во время хранения, которые, по-видимому, ускоряются за счет активации, происходящей в процессе получения клеток.

**Цель.** Оценка качества и безопасности тромбоцитов, заготовленных на экспериментальном добавочном растворе с включением фумарата натрия (ДРЭ) при пролонгированном гипотермическом хранении.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования являлись концентраты тромбоцитов (КТ), заготовленные методом афереза (Trima Accel, Terumo BCT, Inc.) от доноров крови, подписавших информированное согласие на проведение процедуры ( $n = 15$ ). После окончания работы аппарата с помощью устройства для стерильного запаивания трубок контейнеров с кровью (TERUMO TSCD-II, Terumo BCT Inc, Бельгия) и магистралей (BK 10-01 «ЛЛ», Россия) компонент для исследования разделяли на две равные части по 100–110 мл. В контейнеры с КТ добавляли добавочный раствор для хранения (ДРЭ или SSP+). Добавление ДР производилось из расчета 30% аутологичной плазмы и 70% ДР. Контейнеры с КТ хранились в холодильнике для хранения крови при температуре  $+4 \pm 2^\circ\text{C}$ . Комплексное лабораторное исследование проводили в день заготовки, на 5, 10 и 15 день хранения.

Экспрессия Р-селектина (CD62P) и фосфатидилсерина (по связыванию аннексина V) определялась с помощью многоцветной проточной цитометрии (проточный цитофлуориметр «Navios», Beckman Coulter, Франция). Использованы наборы моноклональных антител Annexin V FITC (Beckman Coulter) и CD62P PE (Beckman Coulter). Статистический анализ выполнен в программе Microsoft Excel с надстройкой Real-Statistics (by Charles Zaiontz) методами непараметрической статистики. Данные представлены как Mediana (1Q–3Q). Сравнение групп в каждой временной точке проводили с помощью двустороннего парного внутригруппового и межгруппового теста Wilcoxon. Статистически значимыми считали различия, когда вероятность ошибки составляла не более 0,05 ( $p < 0,05$ ).

**Результаты.** Полученные результаты по оценке экспрессии фосфатидилсерина и Р-селектина выявили отсутствие значимых различий ( $p > 0,05$ ) указанных параметров в сравниваемых группах на всех исследуемых сроках хранения. В то же время по мере увеличения длительности хранения в обеих группах наблюдалось нарастание этих показателей. Так, доля тромбоцитов с экспрессией

аннексина V в группе хранения в SSP+ увеличивалась в 3,36 и 3,48 раза на 5-й и 15-й день соответственно, при этом на 10-й день наблюдалось снижение в 1,2 раза. Изменения этого показателя при использовании ДРЭ носили аналогичный, однако менее выраженный характер: возрастание в 1,36, 1,06 и 1,17 раз на 5-й, 10-й и 15-й дни хранения соответственно. Исследование экспрессии CD62P также показало схожие тенденции: увеличение доли CD62P+ тромбоцитов – в 1,67, 1,44 и 2,14 раз в растворе SSP+ на 5-й, 10-й и 15-й дни хранения соответственно, и в 1,01, 1,16 и 1,54 раз в группе хранения в ДРЭ на 5-й, 10-й и 15-й дни хранения соответственно. При этом показатель относительного содержания CD62P+ достигал статистической значимости по сравнению с исходными значениями на 15-й день в обеих группах, составляя KT-SSP+ 11,90% исходно и на 15-й день 25,52% ( $p < 0,05$ ), и в группе KT-ДРЭ 17,07% исходно и на 15-й день 26,33% ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Таким образом, пролонгированное холодовое хранение тромбоцитов в ДРЭ приводит к менее выраженным изменениям их характеристик по сравнению с тромбоцитами, хранимыми в растворе SSP+.

Д.А. Килина<sup>1</sup>, Е.В. Антонюк<sup>1</sup>, Е.Ю. Малиновская<sup>1</sup>, Л.А. Мкртчян<sup>1</sup>, О.В. Калинина<sup>1</sup>, О.Я. Волкова<sup>2</sup>

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ АЛЛЕЛЕЙ И ХАРАКТЕР СЦЕПЛЕНИЯ ГАПЛОТИПОВ ГЕНОВ HLA У ПАЦИЕНТОВ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург

**Введение.** Одним из факторов, осложняющих выбор совместимого родственного донора и приводящих к трудностям в выявлении семейных HLA-гаплотипов, является рекомбинация генов HLA в ходе мейоза, которая вносит значительный вклад в разнообразие HLA-гаплотипов в популяции. Частота такой рекомбинации составляет примерно 1%. Совпадение по HLA-гаплотипам между реципиентом и донором снижает вероятность развития острой РТПХ, следственно это необходимо учитывать, наряду с соответствием по аллелям гена HLA.

**Цель.** Провести анализ встречаемости аллелей и характер сцепления генов HLA, а также случаев семейной рекомбинации у пациентов гематологического профиля.

**Материалы и методы.** Нами проанализированы результаты типирования по генам HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 368 пациентов гематологических отделений НМИЦ им. Алмазова в период 2012-2022 гг. Типирование генов системы HLA 366 пациентов проводили методом SBT коммерческими наборами Protrans S4 (Protrans, Германия) и AlleleSEQR@HLA (GenDX, Нидерланды), для 2 пациентов и 11 родственных доноров HLA – типирование выполняли методом ПЦП-SSP коммерческими наборами Protrans Cycloplate System (Protrans, Германия), Olerup (CareDX, Швеция). Статистическую обработку результатов осуществляли в программе Arlequin 3.5.

Результаты исследования. Наблюдаемое распределение аллелей генов HLA в изучаемой выборке соответствовало ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга. Всего определено 29 вариантов аллелей гена HLA-A, 49 вариантов аллелей гена HLA-B, 28 аллелей гена HLA-C, 39 аллелей гена HLA-DRB1 и 19 аллелей гена HLA-DQB1. Наибольшая встречаемость, определенная методом максимизации функции правдоподобия, установлена для HLA-гаплотипа A\*01:01, B\*08:01, C\*07:01, DRB1\*03:01, DQB1\*02:01 (rel.freq. = 0,18, exp.freq.=0,035). В то же время, варианты аллелей с максимальной ожидаемой частотой для гена HLA-A были \*02:01, \*03:01, \*01:01 (exp.freq. = 0,3, 0,138, 0,126), для гена HLA-B – \*07:02, \*13:02, \*35:01 (exp.freq. = 0,120, 0,078, 0,068), для гена HLA-C – \*07:02, \*04:01, \*06:02 (exp.freq. = 0,145, 0,141, 0,129), для гена HLA-DRB1 – \*15:01, \*07:01, \*01:01 (exp.freq. = 0,141, 0,139, 0,089) и для гена HLA-DQB1 – \*03:01, \*06:02, \*05:01 (exp.freq. = 0,227, 0,138, 0,116).

На основании результатов permutation test («перестановочного теста») с использованием EM-алгоритма было определено, что пары генов HLA-B и -C ( $p = 0,000$ ), -C и -DQB1 ( $p = 0,000$ ), -B и -DQB1 ( $p = 0,000$ ), -DRB1 и -DQB1 ( $p = 0,000$ ) находятся в сильном неравновесном сцеплении, в то время как пары генов HLA-A и -B ( $p = 1,000$ ), -A и -C ( $p = 0,992$ ), -A и -DRB1 ( $p = 1,000$ ), -A и -DQB1 ( $p = 0,999$ ), -B и -DRB1 ( $p = 0,999$ ), -C и -DRB1 ( $p = 0,179$ ) не демонстрируют такой же сцепленности между собой. Ген HLA-A во всех возможных комбинациях не показал статистически значимого отклонения от нулевой гипотезы о том, что гены наследуются независимо друг от друга. В подтверждение этого, в двух семьях были обнаружены варианты рекомбинации локусов системы HLA между генами HLA-A и HLA-B, при этом в обоих случаях кроссинговер произошел в материнских хромосомах.

В первой семье, состоявшей из 7 человек (мать, отец и 5 сиблингов), было определено 4 семейных HLA-гаплотипа (хромосомы: m – материнская, p – отцовская): m1 – A\*03, B\*35, C\*03, DRB1\*08, DQB1\*04; m2 – A\*02, B\*44, C\*02, DRB1\*13, DRB3, DQB1\*06; p1 – A\*01, B\*52, C\*12, DRB1\*07, DRB4, DQB1\*02; p2 – A\*25, B\*27, C\*02, DRB1\*16, DRB5, DQB1\*05. У сиблинга мужского пола наследуемый HLA-гаплотип был определен как A\*02(m2), B\*35(m1), C\*03(m1), DRB1\*08(m1), DQB1\*04(m1) и выявлена рекомбинация в точке между генами HLA-A и HLA-B, в связи с чем был унаследован вариант HLA-A\*02 вместо ожидаемого A\*03.

В другой семье, состоявшей из 6 человек (мать, отец и 4 сиблинга), было также определено 4 семейных HLA-гаплотипа: m1 – A\*30, B\*13, C\*06, DRB1\*13, DRB3, DQB1\*06; m2 – A\*31, B\*13, C\*06, DRB1\*07, DRB4, DQB1\*02; p1 – A\*02, B\*13, C\*06, DRB1\*07, DRB4, DQB1\*02; p2 – A\*68, B\*51, C\*15, DRB1\*11, DRB3, DQB1\*03. У сиблинга женского пола наследуемый HLA-гаплотип был определен как A\*31(m2), B\*13(m1/m2), C\*06(m1/m2), DRB1\*13(m1), DRB3(m1/m2), DQB1\*06(m1), однако из-за наличия гомозиготных вариантов генов HLA-B и -C точку кроссинговера однозначно определить было сложнее. На основании данных permutation test, ген HLA-A находился в слабом неравновесном сцеплении со всеми из исследованных генов HLA, что позволило предположить наличие точки кроссинговера между генами HLA-A и HLA-B.

**Выводы.** Определенные нами частоты аллелей и гаплотипов генов HLA в исследуемой выборке соответствовали ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга. Выявленные случаи кроссинговера подтверждают возможность независимого семейного наследования гена HLA-A.

Таким образом, для контроля соответствия не только по аллелям генов HLA, но и по их гаплотипам, при подборе совместимого родственного донора необходимо полное семейное HLA-типирование с целью выявления случаев рекомбинации в родительских гаметах.

*Д.А. Килина, Е.В. Антонюк, Ю.В. Сазонова, М.А. Симоненко, О.В. Калинина О.В., П.А. Федотов*

## ПРЕДИКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ АЛГОРИТМА PIRCHE ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ ПОСТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ ПЕРЕНЕСШИХ ОТТС

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург*

**Введение.** В настоящее время все большее внимание уделяется трансплантации органов у пациентов в терминальной стадии заболеваний. На сегодняшний день операция ортотопической трансплантации сердца (ОТТС) является общепризнанным золотым стандартом лечения терминальной сердечной недостаточности (СН), существенно улучшающим прогноз и качество жизни. Отдаленный прогноз пациентов после ОТТС, в первую очередь, определяется особенностями взаимодействия организма реципиента и трансплантированного органа, что может приводить к развитию посттрансплантационных осложнений, в том числе дисфункции трансплантата и СН со снижением фракции выброса. Одним из методов оценки вероятности возникновения посттрансплантационных осложнений является алгоритм PIRCHE ([www.pirche.org](http://www.pirche.org)), включающий два показателя, PIRCHE-I и PIRCHE-II, для определения потенциально несовпадающих HLA-эпитопов. Для трансплантации солидных органов рассчитывается только показатель PIRCHE-II, оценивающий количество несовпадающих HLA-эпитопов, которые могут быть распознаны непрямым путем рецепторами HLA класса II антиген-презентирующими клетками (АПК) реципиента.

**Цель исследования.** Изучить возможности алгоритма PIRCHE как инструмента для прогнозирования посттрансплантационных осложнений после ОТТС.

**Материалы и методы.** В данном исследовании были проанализированы 143 случая ОТТС, проведенной в НМИЦ им. В.А. Алмазова в период с 2015 по 2023 год. В первый год после трансплантации у 26 (18,18%) реципиентов наблюдалось клеточное отторжение трансплантата (2R-3R), у 35 (24,48%) – гуморальное отторжение трансплантата (AMR2-AMR3), у 17 (11,89%) – проявления клеточного и гуморального отторжения, у 65 (45,45%) реципиентов не было отторжения. Степень и тип отторжения трансплантата оценивались с помощью гистологического анализа материала пункционной тонкоигольной биопсии донорского сердца. HLA-типирование проводили методом ПЦР-SSP по генам HLA-A, -B, -DRB1 с помощью наборов Protrans (Protrans, Германия), Olerup (CareDX, Швеция) и BAG HISTO TYPE SSP (BAG Diagnostics, Германия). Наличие антител к HLA антигенам выявляли методом мультиплексного анализа с использованием набора LIFECODES LifeScreen Deluxe Kit (Immucor, США), положи-

тельным результатом считали значение MFI (mean fluorescence immunofluorescence) >2000. Статистический анализ взаимосвязи переменных проводили с использованием t-критерия Стьюдента, хи-квадрата Пирсона с помощью библиотек Python SciPy v1.10.1 и Pandas.

**Результаты.** Антитела только к антигенам HLA I класса были выявлены у 1 (3,85%) из 26 реципиентов с клеточным отторжением, у 3 (8,57%) из 35 с гуморальным отторжением, у 2 (11,76%) из 17 с одновременно клеточным и гуморальным отторжением и у 1 (1,54%) из 65 – без отторжения. Антитела только к антигенам HLA II класса были обнаружены у 5 (19,23%) из 26 реципиентов с клеточным отторжением, у 3 (8,57%) из 35 с гуморальным отторжением, у 1 (5,88%) из 17 с одновременно клеточным и гуморальным отторжением и у 13 (20%) из 65 – без отторжения. Антитела к антигенам HLA I и II класса были найдены у 3 (11,54%) из 26 реципиентов с клеточным отторжением, у 6 (17,14%) из 35 с гуморальным отторжением, у 5 (7,69%) из 65 – без отторжения. Статистически значимая взаимосвязь на основании t-критерия Стьюдента обнаружена между показателем PIRCHE-II и наличием антител к антигенам HLA I класса независимо от наличия или отсутствия антител HLA класса II ( $t = 2,222$ ,  $p = 0,028$ ), что обусловлено наличием на кардиомиоцитах только рецепторов HLA I класса. Результаты теста независимости хи-квадрата Пирсона позволили установить статистически значимый пороговый уровень показателя PIRCHE-II >160 ( $p = 0,029$ ). В то же время, достоверной связи выявлено не было между уровнем показателя PIRCHE-II и антителами к антигенам HLA II класса ( $t = -0,159$ ,  $p = 0,874$ ), возникновением гуморальных ( $t = -0,809$ ,  $p = 0,42$ ) или клеточных ( $t = -0,871$ ,  $p = 0,385$ ) отторжений трансплантата. Более того, не установлено корреляции между наличием антител к антигенам HLA I или II класса и развитием гуморальных или клеточных отторжений, что, вероятно, обусловлено отсутствием комплементсвязывающей активности данных антител.

**Вывод.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что значение показателя PIRCHE-II >160 является предиктором возникновения антител к антигенам HLA I класса, но при этом не является информативным для прогнозирования гуморального или клеточного отторжения трансплантата.

*Д.Ю. Ключников<sup>1</sup>, О.В. Тюмина<sup>1,2</sup>, Ю.Ю. Тетерина<sup>1</sup>, Л.М. Трусова<sup>1</sup>*

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ KIR-ГЕНОВ И ГЕНОТИПОВ В ПОПУЛЯЦИИ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

<sup>1</sup>ГБУЗ «МЦ Династия», г. Самара

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, г. Самара

**Введение.** NK-клетки являются компонентом системы врожденного иммунитета, они обладают цитотоксической активностью и участвуют в регуляции адаптивного иммунного ответа. Эффекторные функции NK-клеток регулируются комплексом

сигналов, полученных от активирующих и ингибирующих иммуноглобулиноподобных рецепторов (KIR), экспрессируемых на поверхности NK-клеток. Рецепторы KIR кодируются генами, расположенными на коротком плече 19 хромосомы в участке 19q13.4.

Гены KIR высокомолекулярны и образуют достаточно полиморфное семейство, внутри которого 15 генов и 2 псевдогена. Большой интерес в последние годы вызывает влияние KIR NK-клеток и их лигандов на результаты алло-ТГСК. Аллели и генотипы HLA широко изучаются, в то время как частоты встречаемости генов и генотипов KIR описаны всего для нескольких небольших популяций в Российской Федерации и изучены недостаточно.

**Цель.** Изучение частот KIR-генов и генотипов в популяции Самарской области.

**Материалы и методы исследования.** Для изучения частот встречаемости генов KIR было проведено молекулярно-генетическое типирование 142 образцов ЕПК публичного банка пуповинной крови ГБУЗ «МЦ Династия». ДНК из пуповинной крови была выделена с использованием наборов NucleoSpin Blood (MACHEREY-NAGEL, Германия), тестирование генов KIR проведено с помощью метода ПЦР с сиквенс-специфичными праймерами с последующей визуализацией продуктов амплификации в агарозном геле. Анализ проводился по 17 KIR-генам и псевдогенам: 2DL1, 2DL2, 2DL3, 3DL1, 3DL2, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5, 3DS1, 2DP1, 3DL3+3DX1, 2DL4, 2DL5, 3DP1. Определение KIR-B-статуса («best», «better», «neutral») проводили с использованием ресурса [https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/matching/b\\_content](https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/matching/b_content).

**Результаты.** Во всех исследуемых образцах ЕПК присутствовали структурные гены ингибирующих KIR KIR3DL2, KIR3DL3, KIR2DL4 и псевдоген KIR3DP1, почти у всех образцов ЕПК в исследуемой группе присутствовал псевдоген KIR2DP1 (99%). Частоты

встречаемости генов ингибирующих KIR были выше, чем активирующих, за исключением KIR2DS4. Частоты встречаемости генов ингибирующих KIR составила: для 2DL1 – 98%, 2DL2 – 40%, 2DL3 – 97%, 2DL5 – 46%, 3DL1 – 97%, а частоты активирующих 2DS1 – 64%, 2DS2 – 40%, 2DS3 – 33%, 2DS4 – 97%, 3DS1 – 34%. Наименьшая частота встречаемости определена у гена активирующего рецептора KIR2DS5 (26%). При сравнении с описанной ранее популяцией жителей Санкт-Петербурга (доноров регистра Российского НИИ гематологии и трансфузиологии) обнаружена более низкая частота встречаемости гена KIR2DL2 (40% против описанной 47%) и более высокая KIR2DS1 (61% против 40%). Значимой разницы в частотах встречаемости KIR-генотипов между популяцией Санкт-Петербурга и Самары отмечено не было. При анализе KIR-генотипа ЕПК AA встречались с частотой 27%; генотипы Vx 73%. «Best» B-content в описанной группе был выявлен всего в 4%, «better» в 26%, а «neutral» в 70%.

**Выводы.** Полученные данные по частотам распределения KIR-генов в популяции Самарской области показали общие и особые черты в сравнении с популяцией других регионов Российской Федерации и Европейскими популяциями. Для изучения полной картины распределения генов и генотипов KIR важно учитывать национальные и этнические особенности каждой исследуемой группы. Результаты данной работы требуют дополнительных исследований для дальнейшего потенциального использования при выборе оптимальных доноров кроветворных клеток и костного мозга.

*Е.П. Кузьмина, С.П. Хижинский, А.Р. Абдрахимова, Е.А. Леонов, И.Ю. Урыбин,  
Т.В. Гапонова, Е.Г. Хамаганова*

## ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

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

**Введение.** Генетическое разнообразие регистра доноров гемопоэтических стволовых клеток увеличивает шанс успешного подбора донора для пациентов, нуждающихся в трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Включение в регистр как можно большего количества доноров из различных регионов страны положительно влияет на динамику развития донорства стволовых клеток. Вологодская область представляет собой исконно русский регион с высокой долей русского населения. Формирование современной популяции Вологодской области проходило под активным влиянием как минимум двух этнических групп – славянской и финно-угорской. Поэтому представители данного региона в регистре могут быть весьма ценным и интересным материалом для иммуногенетических исследований.

**Цель** – оценить иммуногенетический профиль и HLA-гаплотипическое разнообразие доноров из Вологодской области.

**Материалы и методы.** В качестве исследуемого материала использовалась ДНК, полученная из замороженных образцов цельной донорской крови (119 образцов). ДНК выделяли наборами QIASymphony DNA Mini Kit (Qiagen) с использованием станции QIASymphony. Типирование образцов проводили коммерческими наборами для секвенирования нового поколения (NGS, next generation sequencing) AllType FASTplex (One Lamda) на секвенаторе MiSeq. Все 119 образцов типировались по локусам HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQA1, -DQB1 до второго и третьего поля и общие данные были приведены до второго поля. Для статистического анализа полученных данных пользовались программой Arlequin, при оценке гаплотипов и их частот использовали алгоритм максимизации ожидания (EM) с неизвестной гаметной фазой.

**Результаты:** в результате типирования доноров Вологодской области было выявлено следующее разнообразие HLA-аллелей. В локусе А – 19 аллелей, из них наиболее частотные А\*02:01

(28,6%), А\*03:01 (20,6%), А\*01:01 (10,5%), А\*24:02 (10,1%). В локусе В – 40 аллелей, наиболее частотные В\*07:02 (18,1%), В\*35:01 (9,2%), В\*15:01 (7,1%), В\*08:01 (6,7%). В локусе С – 20 аллелей, самые частотные С\*07:02 (21,4%), С\*04:01 (16,8%), С\*07:01 (10,5%), С\*12:03 (8,8%). В локусе DRB1 было выявлено 26 аллелей, из них самые частотные DRB1\*15:01 (17,2%), DRB1\*01:01 (13,4%), DRB1\*07:01 (11,3%). В локусе DQA1 – 12 аллелей, самые частотные DQA1\*01:02 (22,3%), DQA1\*05:05 (18,1%), DQA1\*01:01 (14,7%). В локусе DQB1 – 15 аллелей, наиболее частотные DQB1\*03:01 (20,6%), DQB1\*06:02 (16,4%), DQB1\*05:01 (15,9%), DQB1\*06:03 (8,8%). Во всех исследуемых локусах отклонений от равновесия Харди-Вайнберга обнаружено не было. С помощью алгоритма максимизации ожидания был выявлен 151 шести-локусный HLA-гаплотип из 5024 возможных вариантов, из них 19 гаплотипов встречались с частотой более 1%. Наиболее частотными гаплотипами оказались А\*03:01-В\*35:01-С\*04:01-DRB1\*01:01-DQA1\*01:01-DQB1\*05:01 (5,9%), А\*01:01-В\*08:01-С\*07:01-DRB1\*03:01-DQA1\*05:01-DQB1\*02:01 (4,6%) и А\*02:01-В\*07:02-С\*07:02-DRB1\*15:01-DQA1\*01:02-DQB1\*06:02 (4,2%). Еще два гаплотипа встречались с частотой 2,1% - А\*02:01-В\*14:01-С\*1\*03:04-DRB1\*15:01-DQA1\*01:02-DQB1\*06:02 и А\*03:01-В\*07:02-С\*07:02-DRB1\*15:01- DQA1\*01:02-DQB1\*06:02.

**Выводы:** таким образом, иммуногенетический профиль вологодской популяции имеет весьма интересные особенности, отличающие ее от других российских популяций и даже от ближайших географических соседей. Так, в нашем исследовании, среди доноров из вологодской области преобладает гаплотип А\*03:01-В\*35:01-С\*04:01-DRB1\*01:01-DQA1\*01:01-DQB1\*05:01, который часто встречается в популяциях финнов и саамов. Кроме того, и частота встречаемости данного гаплотипа среди вологжан (5,9%) приближена к таковой у финнов (7,1%), в то время как в других доступных для анализа российских по-

пуляций не превышает 4%. Интересным является тот факт, что у доноров соседних Санкт-Петербурга и Ленинградской области данный гаплотип занимает третье по встречаемости место. Очевидно, этногенез вологодской популяции проходил под активным влиянием финно-угорской компоненты, которая закрепилась и сохранилась до сегодняшнего дня. Два других самых частотных среди вологжан гаплотипа, в том числе анце-

стральный АН8.1, являются типичными средневропейскими и встречаются примерно с той же частотой, что и в большинстве популяций русских. Таким образом, доноры Вологодской области имеют иммуногенетические особенности в распределении HLA-генов и гаплотипов, делающие их отличными от других популяций русских, и вносят свой определенный вклад в разнообразие донорского регистра.

*Е.В. Кузьмич<sup>1</sup>, И.Е. Павлова<sup>1</sup>, Е.В. Глаз<sup>2</sup>, С.П. Лещук<sup>2</sup>, Т.В. Глазанова<sup>1</sup>, И.А. Искров<sup>2</sup>, А.Л. Усс<sup>2</sup>, Л.Н. Бубнова<sup>1</sup>*

## ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ДВУХ СЛАВЯНСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Государственное учреждение «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», г. Минск, Республика Беларусь

**Введение.** Славяне – крупнейшая этнолингвистическая группа Европы, известная с середины II тысячелетия до н.э. В VI-VII веках нашей эры славянские племена разделились на три ветви: вены, склавны и анты. Позднее из ветви антов сформировались восточные славяне: белорусы, русские и украинцы. В сложный процесс формирования восточного славянства были вовлечены не только славянские племена, но и население соседних территорий – финны, угры, тюрки, балты.

**Цель исследования.** Сравнительный анализ иммуногенетического профиля русских, проживающих в Санкт-Петербурге, и белорусов.

**Материалы и методы.** В исследование включены 1563 жителя Санкт-Петербурга, являющихся русскими согласно самоидентификации, и 2420 граждан Республики Беларусь, самоопределившихся как белорусы. Иммуногенетическое обследование русских выполнено методами PCR-SSP («Protrans», Германия) и PCR-SSOP («BAG HEALTH CARE», Германия). HLA-типирование белорусов проведено методами PCR-SSOP («Immucor», США) и PCR-SSP («One Lambda», «Olerup», США). Определение частот HLA-гаплотипов выполнено с помощью программы Arlequin ver. 3.5 с использованием EM алгоритма.

**Результаты.** В процессе обследования у русских определены 19, у белорусов – 18 групп аллелей гена HLA-A. Группа A\*36, выявленная у русских, не встречалась у белорусов. Наиболее распространенные группы аллелей гена HLA-A у представителей двух популяций совпадали: A\*02, A\*03, A\*01. Отмечена тенденция большей распространенности группы A\*33 у русских (0,0208 vs 0,0130,  $p = 0,05$ ). У белорусов установлены 30, у русских – 29 групп аллелей гена HLA-B. Группа В\*54, определенная у русских, не встречалась у белорусов. Напротив, группы В\*42, В\*67 были определены только у белорусов. Наиболее распространенные группы аллелей гена HLA-B у белорусов и русских совпадали: В\*07, В\*35, В\*44. Группы В\*14, В\*15, В\*48 достоверно чаще встречались у русских (0,0253 vs 0,0141,  $p = 0,01$ ; 0,0723 vs 0,0529,  $p = 0,01$ ; 0,0054 vs 0,0012,  $p = 0,03$  соответственно). Группа В\*57 была более распространена у белорусов (0,0401 vs 0,0272,  $p = 0,04$ ). У представителей обеих популяций установлены 14 групп аллелей гена HLA-C. Наиболее распространенные группы аллелей гена HLA-C были аналогичны: С\*07, С\*04. Группа С\*08 достоверно чаще опре-

делялась у русских (0,0301 vs 0,0155;  $p = 0,003$ ). У русских и белорусов выявлены все известные группы аллелей генов HLA-DRB1, HLA-DQB1. У белорусов наиболее распространенными группами аллелей гена HLA-DRB1 являлись: DRB1\*15, DRB1\*07, DRB1\*11; у русских – DRB1\*15, DRB1\*07, DRB1\*01. Группа DRB1\*01 с наибольшей частотой определялась у русских (0,1296 vs 0,1037,  $p = 0,01$ ). Группа DRB1\*11 чаще встречалась у белорусов (0,1519 vs 0,1264,  $p = 0,03$ ). Наиболее распространенные группы аллелей гена HLA-DQB1 у русских и белорусов совпадали: DQB1\*03, DQB1\*06. Статистически достоверные различия частот групп аллелей гена HLA-DQB1 в группах сравнения не выявлены.

У русских определены 1126 HLA-гаплотипов. Наиболее распространенными являлись: A\*01-B\*08-C\*07-DRB1\*03-DQB1\*02 (0,0387), A\*03-B\*07-C\*07-DRB1\*15-DQB1\*06 (0,0298), A\*02-B\*13-C\*06-DRB1\*07-DQB1\*02 (0,0241), A\*03-B\*35-C\*04-DRB1\*01-DQB1\*05 (0,0225), A\*02-B\*07-C\*07-DRB1\*15-DQB1\*06 (0,0212), A\*02-B\*18-C\*07-DRB1\*11-DQB1\*03 (0,0127), A\*02-B\*15-C\*03-DRB1\*04-DQB1\*03 (0,0119), A\*25-B\*18-C\*12-DRB1\*15-DQB1\*06 (0,0115), A\*02-B\*41-C\*17-DRB1\*13-DQB1\*03 (0,0112), A\*30-B\*13-C\*06-DRB1\*07-DQB1\*02 (0,0097). У белорусов установлены 1365 HLA-гаплотипов. С наибольшей частотой встречались следующие: A\*01-B\*08-C\*07-DRB1\*03-DQB1\*02 (0,0445), A\*03-B\*07-C\*07-DRB1\*15-DQB1\*06 (0,0330), A\*02-B\*13-C\*06-DRB1\*07-DQB1\*02 (0,0294), A\*02-B\*07-C\*07-DRB1\*15-DQB1\*06 (0,0194), A\*03-B\*35-C\*04-DRB1\*01-DQB1\*05 (0,0179), A\*02-B\*18-C\*07-DRB1\*11-DQB1\*03 (0,0159), A\*25-B\*18-C\*12-DRB1\*15-DQB1\*06 (0,0141), A\*02-B\*57-C\*06-DRB1\*07-DQB1\*03 (0,0118), A\*11-B\*35-C\*04-DRB1\*01-DQB1\*05 (0,0112), A\*23-B\*44-C\*04-DRB1\*07-DQB1\*02 (0,0109), A\*02-B\*27-C\*02-DRB1\*16-DQB1\*05 (0,0105). Таким образом, семь наиболее распространенных гаплотипов у белорусов и русских совпадали и были близки по частоте. В то же время гаплотипы A\*02-B\*57-C\*06-DRB1\*07-DQB1\*03 и A\*02-B\*27-C\*02-DRB1\*16-DQB1\*05 были характерны для белорусов (0,0118 vs 0,0049; 0,0105 vs 0,0038;  $p = 0,03$ ). Гаплотип A\*02-B\*41-C\*17-DRB1\*13-DQB1\*03 был характерен для русских (0,0112 vs 0,0052;  $p = 0,04$ ).

**Заключение.** Выполненное исследование демонстрирует как сходство, так и различия иммуногенетического профиля русских, проживающих в Санкт-Петербурге, и белорусов, являющихся близкими по происхождению популяциями восточных славян.

*Л.Л. Лебедева, Г.А. Морозова, Ю.Ф. Шубина*

## ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ НА ПЛАТФОРМЕ ION TORRENT ДЛЯ HLA-ТИПИРОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница ДЗМ»

**Введение.** Секвенирование по Сэнгеру с 1990-х годов является «золотым стандартом» для типирования генов HLA на высоком уровне разрешения. Однако этот метод имеет ряд

ограничений в связи с низкой производительностью, высокой стоимостью и многочисленными неоднозначностями, возникающими из-за неполного охвата генов, –дис-транс и вызван-

ными нуклеотидным полиморфизмом за пределами областей секвенирования.

Альтернативным подходом к HLA-генотипированию является секвенирование следующего поколения (NGS). При использовании этих методов охватываются все экзоны и большинство интронов генов HLA, что значительно уменьшает количество неоднозначностей.

В Морозовской детской клинической больнице был применен метод полупроводникового секвенирования следующего поколения (NGS), основанный на обнаружении с помощью детекции изменения сигнала pH иона водорода, который выделяется во время реакции синтеза ДНК. Секвенирование происходит на чипе, содержащем десятки миллионов ячеек, в которых реакция проходит параллельно. Преимуществом этой технологии заключается в том, что в ней не используются модифицированные нуклеотиды и оптические датчики. Комбинация полупроводниковых микрочипов и природной биохимии позволяет напрямую переводить биологическую информацию в цифровой вид.

**Цель исследования.** Оценка возможности применения метода NGS на платформе полупроводникового секвенирования F-Genetics (Сколково, Россия) и эффективности реагентов NGSgo (GenDx, Нидерланды) с полным охватом генов для HLA-типирования при подборе доноров гемопоэтических стволовых клеток в клинико-диагностической лаборатории.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 142 образца ДНК, типированные по генам HLA-A/B/C/DQB1/DRB1/DPB1 методом NGS, за период с октября 2021 г. по декабрь 2022 г. Из них 111 образцов включали реципиентов и предполагаемых родственных доноров (всего 26 семей), 11 образцов неродственных доноров РДКМ им. Васи Перевозчикова и 20 контрольных образцов ЕРТ. 125-ти образцам проводили поلوкусную амплификацию с использованием праймеров NGSgo-AmpX-v2, 16-ти образцам – мультиплексную с использованием праймеров NGSgo-MX6-1. Для устранения дисбаланса амплификации аллелей добавляли реагент NGSgo-AmpX-v2 Enhancer. Подготовка библиотек осуществлялась с помощью реагентов NGSgo-LibrX

(фрагментация и лигирование адаптеров) и NGSgo-IndX для индексирования образцов. Этап очистки ДНК и отбор фрагментов по длине осуществляли на магнитных частицах SPRI AMPure. Конечная концентрация пулированной библиотеки составляла 30,0 пикомоль. Этап темпирования (клональную амплификацию, обогащение и загрузку на чип) проводили с помощью роботизированной автоматической системы IonChef (F-Genetics, Сколково). В нашем исследовании использовались полупроводниковые чипы 510 «РепроЛайн» (F-Genetics, Сколково), с загрузкой до 16 образцов. Анализ результатов осуществляли с помощью программного обеспечения NGSengine (GenDx, Нидерланды). Кроме того, 20 образцов ЕРТ были дополнительно HLA-типированы методом секвенирования по Сэнгеру.

**Результаты.** Были получены результаты HLA-типирования от высокого до аллельного уровня разрешения. Сравнение аллелей 20 образцов ЕРТ, секвенированных с помощью NGS и методом по Сэнгеру, дал 100% идентичный результат. Также полностью подтвердились и результаты типирования 11 неродственных доноров. Основным ограничением метода полупроводникового секвенирования является невозможность правильного прочтения протяженных участков гомополимеров. В нашем исследовании только три образца (1,06%) имели мисматч по аллелям HLA-A в области секвенирования Exon+ из-за вставки гомополимера по цитозину длиной более чем 12 оснований. В этом случае проводили коррекцию с помощью ручных настроек и последующим переанализом данных.

Использование нами реагентов для мультиплексной амплификации значительно сократило время подготовки библиотеки за счет выпадения этапов количественной оценки ампликонов и покусного пулирования образцов.

**Выводы.** Применение метода полупроводникового секвенирования (NGS) на реагентах производителя GenDx с полным охватом генов для исследования клинических образцов способно обеспечить HLA-типирование от высокого до аллельного уровня разрешения с очень низким процентом неоднозначностей. Стратегия секвенирования на основе мультиплексной ПЦР упрощает лабораторную процедуру без ущерба точности типирования.

*О.А. Мишкова<sup>1</sup>, Е.В. Глаз<sup>2</sup>, В.В. Пищак<sup>1</sup>, Т.В. Савицкая<sup>1</sup>, А.Ю. Старцева<sup>2</sup>, Н.В. Минаковская<sup>1</sup>, А.Л. Усс<sup>2</sup>*

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РЕДКИХ АНТИГЕНОВ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ СРЕДИ РЕЦИПИЕНТОВ И ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

<sup>1</sup>Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», д. Боровляны, Минский р-н, Беларусь.

<sup>2</sup>Государственное учреждение «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», г. Минск, Беларусь.

**Введение.** Подбор донора, полностью совместимого с реципиентом по системе тканевой совместимости человека (Human Leukocyte Antigens, HLA) – главного комплекса гистосовместимости, является одним из ключевых моментов успешной аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Проблема подбора совместимых пар «донор-реципиент» состоит главным образом в ограниченности разнообразия фенотипов национальных регистров.

**Цель.** Проведение анализа антигенного разнообразия в популяции пациентов и потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), включенных в Центральный реестр доноров гемопоэтических стволовых клеток Республики Беларусь.

**Материалы и методы.** В исследование были включены результаты HLA-типирования 339 пациентов в возрасте от 0 до 60 лет, получавших лечение на базе Минского научно-практического центра хирургии, трансплантологии и гематологии (МНПЦ ХТиГ) и Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (РНПЦ ДОГИ) и имевших показания к проведению аллогенной трансплантации гемо-

поэтических стволовых клеток, 27885 фенотипов доноров ГСК Центрального реестра Республики Беларусь.

Тканевое типирование по HLA-системе доноров ГСК и реципиентов выполнялось на базе лаборатории HLA-типирования МНПЦ ХТиГ и клинико-диагностической лаборатории РНПЦ ДОГИ.

При выполнении анализа частоты встречаемости антигенов нами определено понятие «редкий» антиген как антиген, частота встречаемости которого в реестре доноров ГСК составляет менее 1%.

**Результаты.** По результатам проведенного анализа для потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток Центрального реестра в Республике Беларусь редкими антигенами являются:

- 1 – для локуса A: A\*34, A\*36, A\*39, A\*43, A\*66, A\*68, A\*69, A\*74, A\*80;
- 2 – для локуса B: B\*37, B\*42, B\*45, B\*46, B\*47, B\*48, B\*50, B\*53, B\*54, B\*55, B\*58, B\*63, B\*64, B\*67, B\*70, B\*72, B\*73, B\*75, B\*78;
- 3 – для локуса DRB1: DRB1\*9 и DRB1\*10.

Среди фенотипов пациентов МНПЦ ХТиГ (216 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет) выявлены следующие редкие антигены:

- 1 – в локусе A: A\*66;
- 2 – в локусе B: B\*37, B\*45, B\*47, B\*48, B\*50, B\*55, B\*58, B\*64;
- 3 – для локуса DRB1: DRB1\*9 и DRB1\*10.

В фенотипах пациентов РНПЦ ДОГИ (123 пациента в возрасте от 0 до 30 лет) редкие антигены представлены:

- 1 – для локуса A: A\*03;
- 2 – для локуса B: B\* 37, B\*45, B\*46, B\*47, B\*48, B\*49, B\*55, B\*58;
- 3 – для локуса DRB1: DRB1\*02 и DRB1\*10.

**Выводы.** В ходе исследования были выявлены различия в структуре фенотипов между группами реципиентов и потенциальных доноров. Данные различия вкпе с наличием редких антигенов позволяют координаторам донорского поиска в ранние сроки принимать решение о необходимости поиска в международных базах данных доноров ГСК и костного мозга, а также о реализации возможности проведения аллогенной трансплантации ГСК с использованием альтернативных источников ГСК: гаплоидентичные трансплантации, пуповинная кровь.

*М.К. Назаретян, К.О. Меликсетян, Ф. Джордан, С.О. Авакян, С.О. Даниелян*

## КЛЮЧЕВЫЕ ШАГИ И РЕЗУЛЬТАТЫ СОВМЕСТНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ АРМЯНСКОГО РЕГИСТРА ДОНОРОВ КОСТНОГО МОЗГА И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ЦЕНТРА ИМ. ПРОФ. Р.О. ЕОЛЯНА

*Армянский Регистр Доноров Костного Мозга, Гематологический Центр им. проф. Р.О. Еоляна, г. Ереван*

**Введение.** Эффективность трансплантации костного мозга (ТКМ) зависит от двух взаимозависимых и взаимодополняющих компонентов – наличия популяции (аккредитованного регистра) потенциальных доноров костного мозга и центра ТКМ, имеющего необходимую инфраструктуру, ресурсы и условия для проведения ТКМ и гемопоэтических стволовых клеток периферической крови (СКПК), а также специально обученный медицинский персонал.

**Цель.** Представить итоги двадцатидвухлетней деятельности Армянского Регистра Доноров Костного Мозга (АРДКМ), аккредитованной ЕФИ лаборатории HLA-типирования, а также опыт координированной работы Регистра с Гематологическим Центром (ГЦ) Министерства здравоохранения Республики Армения по внедрению метода ТКМ в схемы лечения больных гемобластозами и другими опухолями.

**Материал и методы.** Проанализированы материалы по реализации ключевых шагов Регистра доноров костного мозга в Армении, не-государственной не преследующей прибыль организации, обеспечивающей поиск и предоставление совместного донора СКПК.

Рассмотрены и подытожены также основные достижения созданного в 2014 году на базе Гематологического Центра в Ереване подразделения ТКМ, обеспечения его современной инфраструктурой, необходимыми технологическими и кадровыми ресурсами.

Результаты. Сегодня численность рекрутированных доноров костного мозга в АРДКМ составляет свыше 33,000 человек представляющих 31 страну мира. Общее число полученных за весь пе-

риод деятельности поисковых запросов на проведение типирования из разных стран превышает 36,000, из коих 39 большим из различных стран мира были экспортированы совместимые HLA гемопоэтические клетки.

Кроме того, лабораторией АРДКМ сделано 2,900 исследований на выявление HLA-ассоциированных заболеваний и 200 исследований «донор-реципиент», связанных с трансплантацией почки.

Гематологическим центром разработан оригинальный алгоритм аутологичной трансплантации ГКПК и ведения пациентов в пост-трансплантационном периоде.

Команда специалистов ГЦ прошла соответствующую подготовку в зарубежных медицинских центрах. Установлено постоянное профессиональное сотрудничество с ведущими клиниками, занимающимися ТКМ.

С 2017-го по 2022-й год в отделении ТКМ ГЦ сделано 67 трансплантаций СКПК взрослым и 20 аутологичных трансплантаций детям.

В 2021 г. сделаны первые 5 аллогенных трансплантаций СКПК детям с серповидно-клеточной анемией.

**Выводы.** АРДКМ и ГЦ МЗ РА ведут совместную работу по установлению стабильного сотрудничества в области ТКМ. Такое сотрудничество обеспечивает предоставление костного мозга и СКПК от совместимых неродственных доноров пациентам с гемобластозами и некоторыми другими заболеваниями.

Сотрудничество двух центров позволяет успешно и эффективно координировать работу по развитию неродственных ТКМ в Армении.

*Е.Е. Никулина<sup>1</sup>, Н.В. Рисинская<sup>1</sup>, И.С. Февралева<sup>1</sup>, О.В. Сумцова<sup>2</sup>, А.И. Сушков<sup>3</sup>, Я.Г. Мойсюк<sup>2</sup>, А.Б. Судариков<sup>1</sup>*

## АДАПТАЦИЯ РУТИННЫХ МЕТОДИК МОНИТОРИНГА ХИМЕРИЗМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ДОЛИ ДОНОРСКОЙ ДНК В СВОБОДНОЙ ДНК ПЛАЗМЫ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

<sup>2</sup>Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского», г. Москва

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение "Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна" Федерального медико-биологического агентства России, г. Москва

**Введение.** ДНК донорского происхождения, высвобождающаяся в кровотоке в результате некроза и апоптоза клеток трансплантата, является перспективным, активно исследуемым неинвазивным биомаркером целостности органов. Рост доли донорской

свободно циркулирующей ДНК (дсцДНК) в плазме обычно связан с повреждением трансплантата в связи с различными причинами, включая отторжение. В рамках пилотного проекта по изучению прогностического потенциала мониторинга дсцДНК у пациентов

на разных сроках после трансплантации печени нами была проведена оценка двух классических методик мониторинга химеризма – STR-ПЦР и InDel-рвПЦР – для адаптации их под данную задачу.

**Цель.** Установить возможные ограничения и предложить варианты модификации рутинных методов мониторинга химеризма для оценки доли дсцДНК в плазме пациентов после трансплантации печени.

**Материалы и методы.** В слепое исследование включены 16 пациентов, наблюдающихся отделением трансплантации печени ГБУЗ МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского в сроки 4,1–11,5 лет после трансплантации печени. Пол пациента, пол донора, сроки трансплантации, состояние пациента и функции трансплантата на момент исследования были закодированы. Молекулярный анализ проводили в ФГБУ НМИЦ гематологии. СцДНК и контрольную геномную ДНК получали из одной пробирки. Плазму и клетки выделяли из цельной крови; ДНК клеток крови получали методом солевой экстракции; сцДНК выделяли набором «CFExtra» (RaissolBio, Россия) согласно протоколу производителя. Концентрацию сцДНК измеряли на флуориметре Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием набора для количественной оценки образцов с низким содержанием ДНК dsDNA HS. Качество выделенной ДНК (степень деградации полученных фрагментов, относительную долю примеси геномной ДНК) и долю дсцДНК оценивали на основе мультиметрического ПЦР-анализа 19 локусов при помощи набора COgDIS Plus (ООО «Гордиз», Россия). Также для оценки доли дсцДНК была использована тест-система для мониторинга химеризма методом ПЦР в режиме реального времени (InDel-рвПЦР) на основе панели коротких биаллельных инсерций/делетий, предложенной Ализаде [M. Alizadeh et al. 2001].

**Результаты.** Доля дсцДНК в когорте пациентов определялась в диапазоне от 1 до 50%. У всех женщин, получивших печень от донора мужчины, в ДНК плазмы определялись маркеры Y-хромосомы при отсутствии этих же маркеров в ДНК из клеток крови. При конкордантности значений доли дсцДНК, определяемой по анализу ампликонов длиной до 180 пар нуклеотидов, мы отмечаем заниженные значения доли дсцДНК при анализе более длинных ампликонов с использованием обеих методик. Так, например, у пациента №11 доля дсцДНК, определяемая по STR маркерам менее 180 п.н., была 51% (ameloy), 49% (D3S1358), 50% (THO1), и 30% по маркеру SE33 длиной более 233 п.н. Аналогично, анализ InDel-рвПЦР показал у этой пациентки долю дсцДНК 50% по маркеру S06 панели Ализаде (длина ампликона 128 п.н.) и значительное снижение до 10% по маркеру S02 (маркер Y-хромосомы, длина 211 п.н.). Известно, что длина фрагментов свободно циркулирующей ДНК в основном не превышает 180–200 пар нуклеотидов. При этом крайне трудно избежать при выделении сцДНК примеси геномной ДНК. Поэтому с увеличением длины ампликона при неизменном уровне примеси геномной ДНК пациента и естественном снижении доли фрагментов дсцДНК подходящей для анализа длины мы и получаем заниженные результаты.

**Выводы.** Доля дсцДНК в плазме выявляется рутинными методами, применяемыми для мониторинга химеризма, однако при анализе корректно будет использовать только часть панели маркеров, ампликоны которых не длиннее 180 п.н. Для расширения панели необходимо подобрать новые праймеры, амплифицирующие более короткие ПЦР-продукты известных полиморфных фрагментов ДНК.

*И.Е. Павлова, Е.В. Кузьмич, Е.В. Беляева, М.А. Терентьева, Т.В. Глазанова, Л.Н. Бубнова*

## ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПУЛА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ ГСК, РЕКРУТИРОВАННЫХ В ФГБУ РОСНИИГТ ФМБА РОССИИ

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

**Введение.** Успешность поиска HLA совместимых неродственных доноров для пациентов, которым необходимо проведение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), во многом определяется соответствием этнического состава пациентов и потенциальных доноров. Поэтому расширение иммуногенетического разнообразия донорского пула является стратегической целью развития регистров доноров гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). К настоящему моменту в составе когорты потенциальных доноров ГСК, рекрутированных в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, представители 52 национальностей.

**Цель исследования.** Сравнительный анализ распределения HLA-гаплотипов потенциальных доноров ГСК, привлеченных в состав регистра в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

**Материалы и методы.** В исследование включены наиболее многочисленные этнические группы потенциальных доноров ГСК, рекрутированных в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России: русские, буряты и татары. Среди доноров, самоопределившихся как русские, присутствовали жители Санкт-Петербурга (1563 человека), Нижнего Новгорода (725 человек) и Ростова-на-Дону (183 человека). Группа бурят включала 159 жителей Улан-Удэ. Группа татар насчитывала 106 человек, большинство из которых являлись жителями Санкт-Петербурга и Республики Башкортостан. HLA-типирование доноров выполнено методами PCR-SSP («Protrans», Германия) и PCR-SSOP («BAG HEALTH CARE», Германия). Определение частот HLA-гаплотипов осуществлено с помощью программы Arlequin ver. 3.5 с использованием EM алгоритма.

**Результаты.** При анализе иммуногенетического профиля русских популяций учитывались частоты пятилокусных HLA-A-B-C-DRB1-DQB1-галотипов. Независимо от места проживания, максимально распространенными у доноров, самоопределившихся

как русские, были характерные для представителей большинства европейских популяций HLA-гаплотипы A\*01-B\*08-C\*07-DRB1\*03-DQB1\*02 и A\*03-B\*07-C\*07-DRB1\*15-DQB1\*06. У русских, являющихся жителями Санкт-Петербурга и Нижнего Новгорода, к числу 10-ти наиболее высокочастотных HLA-гаплотипов отнесли также: A\*02-B\*13-C\*06-DRB1\*07-DQB1\*02, A\*03-B\*35-C\*04-DRB1\*01-DQB1\*05, A\*02-B\*07-C\*07-DRB1\*15-DQB1\*06, A\*02-B\*18-C\*07-DRB1\*11-DQB1\*03, A\*25-B\*18-C\*12-DRB1\*15-DQB1\*06, A\*02-B\*41-C\*17-DRB1\*13-DQB1\*03, A\*30-B\*13-C\*06-DRB1\*07-DQB1\*02. Гаплотип A\*02-B\*15-C\*03-DRB1\*04-DQB1\*03 принадлежал к 10-ти наиболее высокочастотным у русских-жителей Санкт-Петербурга (частота – 0,0119), значительно реже определялся у русских-нижегородцев (частота – 0,0034,  $p = 0,03$ ) и не был выявлен у русских, проживающих в Ростове-на-Дону. Профиль HLA-гаплотипов, наиболее распространенных у русских-жителей Ростова-на-Дону, имел более выраженные отличия. В частности, у русских-ростовцев к числу гаплотипов, встречающихся с частотой более 0,01, принадлежали: A\*23-B\*44-C\*04-DRB1\*07-DQB1\*02, A\*33-B\*14-C\*08-DRB1\*01-DQB1\*05, A\*02-B\*57-C\*06-DRB1\*07-DQB1\*03, A\*24-B\*35-C\*04-DRB1\*11-DQB1\*03, A\*01-B\*52-C\*12-DRB1\*15-DQB1\*06, A\*02-B\*44-C\*02-DRB1\*16-DQB1\*05. Гаплотип A\*23-B\*44-C\*04-DRB1\*07-DQB1\*02, характерный для жителей Ростова-на-Дону, очень редко выявлялся у русских-петербуржцев (0,0246 vs 0,0062,  $p = 0,01$ ), составляющих большинство доноров, рекрутированных в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

При сравнении иммуногенетического профиля русских-жителей Санкт-Петербурга с бурятами и татарами учитывались частоты трехлокусных HLA-A-B-DRB1-гаплотипов. Установлено, что гаплотипы A\*24-B\*40-DRB1\*04, A\*32-B\*35-DRB1\*13, A\*31-B\*15-DRB1\*04, A\*02-B\*40-DRB1\*14, A\*24-B\*08-DRB1\*03, распространенные у бурят (частоты – 0,0362; 0,0157; 0,0126; 0,0121



и 0,0106 соответственно), не встречались у русских-жителей Санкт-Петербурга. Следующие гаплотипы являлись часто встречающимися у бурят и редкими у русских-петербуржцев: A\*23-B\*44-DRB1\*07 (0,0377 vs 0,0067, p = 0,005), A\*33-B\*58-DRB1\*13 (0,0283 vs 0,0015, p = 0,004), A\*01-B\*37-DRB1\*10 (0,0283 vs 0,0040, p=0,02), A\*03-B\*50-DRB1\*07 (0,0252 vs 0,0005, p = 0,002), A\*24-B\*48-DRB1\*12 (0,0242 vs 0,0005, p = 0,002), A\*02-B\*40-DRB1\*04 (0,0235 vs 0,0035, p = 0,02), A\*24-B\*40-DRB1\*11 (0,0235 vs 0,0011, p = 0,002), A\*24-B\*51-DRB1\*07 (0,0157 vs 0,0002, p = 0,02).

Гаплотипы A\*24-B\*44-DRB1\*01 и A\*31-B\*58-DRB1\*04, распространенные у татар (частоты – 0,0142 и 0,0142 соответственно), не были выявлены у русских-петербуржцев. Следующие гаплотипы

являлись высокочастотными у татар и крайне редко определялись у русских-петербуржцев: A\*02-B\*44-DRB1\*07 (0,0461 vs 0,0055, p = 0,002); A\*03-B\*13-DRB1\*07 (0,0162 vs 0,0008, p = 0,03); A\*03-B\*08-DRB1\*03 (0,0142 vs 0,0006, p = 0,03).

**Заключение.** Русские, проживающие в г. Санкт-Петербурге, составляют большинство потенциальных доноров ГСК, рекрутированных в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Выполненное исследование демонстрирует существенный вклад бурят, татар, русских-жителей г. Ростова-на-Дону в иммуногенетическое разнообразие донорского пула, что, в свою очередь, способствует повышению эффективности поиска доноров для пациентов, нуждающихся в проведении алло-ТГСК.

*Т.А. Сулова, М.А. Логинова, А.А. Крохин, М.Н. Вавилов, М.Н. Русаков, Н.С. Нуриахметова, Ю.В. Гурова, Е.В. Холодок, И.М. Иванова*

## РАЗНООБРАЗИЕ АЛЛЕЛЕЙ HLA-II У РУССКИХ ДОНОРОВ РЕГИСТРА ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинская областная станция переливания крови», Челябинск  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России, Киров*

**Введение.** В Регистр доноров СК Челябинской ОСПК входят люди различной национальности. Основную часть составляют русские (64%). Остальные – татары, башкиры, казахи и потомки смешанных браков.

**Цель работы** – изучить генетическое разнообразие HLA-аллелей локусов II класса у русских доноров гемопозитических стволовых клеток Челябинского регистра.

**Материалы и методы.** В исследование включены 492 русских донора Челябинского регистра, национальность которых в третьем поколении определена методом анкетирования. HLA-типирование образцов геномной ДНК проводили в разрешении 2-fields по технологии массового параллельного секвенирования с использованием тест-системы PARAllele HLA solution v3 (ООО «ПАРСЕК ЛАБ», Россия), секвенирование осуществляли на приборе MiSeq™ System («Illumina Inc.», США). Полученные данные анализировали с использованием программы PARAllele HLA software v.1.11.0 (ООО «ПАРСЕК ЛАБ», Россия). Статистические расчеты проводили с использованием программы Arlequin v. 3.5.

**Результаты.** Наибольшей распространенностью в локусе HLA-DRB1\* характеризуются аллельные семейства DRB1\*01 с частотой встречаемости 14,0% (из трех аллелей превалирует DRB1\*01:01 – 12,7%), DRB1\*07 – 14,2% (представлено только аллелем DRB1\*07:01) и DRB1\*15 – 13,6% (представлено аллелями DRB1\*15:01, DRB1\*15:02). Аллельное семейство DRB1\*03 представлено только аллелем DRB1\*03:01 (7,3%). Наибольшее разнообразие аллелей выявлено в аллельном семействе DRB1\*04, где обнаружены 8 аллелей. Преобладали аллели DRB1\*04:01 с частотой встречаемости 5,2% и DRB1\*04:04 с частотой встречаемости 3,3%. Частота остальных аллелей DRB1\*04, а именно 04:02, 04:03, 04:07, 04:05, 04:08, не превышала 1% у каждого. В аллельном семействе DRB1\*11 выявлены 4 аллеля, из которых наибольшей частотой встречаемости в популяции русских Челябинской области характеризуются аллели DRB1\*11:01 (6,0%) и DRB1\*11:04 (3,4%), DRB1\*11:03 (1,0%). Частота редкого аллеля DRB1\*11:11 не превышает 0,1%. Аллельное семейство DRB1\*13 представлено пятью аллелями: DRB1\*13:01 (7,3%), DRB1\*13:02 (2,3%), DRB1\*13:03 (3,2%), DRB1\*13:05 (0,2%), DRB1\*13:15 (0,1%). Че-

тыре аллеля идентифицированы в семействе DRB1\*08: самый распространенный – DRB1\*08:01 (3,6%), три других DRB1\*08:02, DRB1\*08:03 и DRB1\*08:04 имеют частоту 0,1% каждый. Три аллеля определены в семействе DRB1\*14, а именно DRB1\*14:54 (1,2%), DRB1\*14:01 (0,2%) и DRB1\*14:02 (0,2%). В аллельных семействах DRB1\*16 и DRB1\*12 выявлено по два аллеля в каждом – один распространенный DRB1\*16:01 (4,2%), DRB1\*12:01 (2,1%) и один редкий DRB1\*16:02 (0,4%), DRB1\*12:02 (0,1%). Аллельные семейства DRB1\*09 и DRB1\*10 представлены единственным аллелем – DRB1\*09:01 (2,1%); DRB1\*10:01 (1,1%), соответственно.

В локусе HLA-DQB1 определены 20 аллелей. Восемнадцать из них, согласно каталога CIWD version 3.0.0, относятся к общим (Common), аллель DQB1\*02:17 к хорошо задокументированному (Well Documented), аллель DQB1\*04:01 к промежуточным (Intermediate). Наибольшее аллельное разнообразие выявлено для аллельных семейств DQB1\*03 и DQB1\*06, в каждом из которых определено по 5 аллелей. Наиболее распространенными в этих семействах у русских Челябинской области являются DQB1\*03:01 (18,4%), DQB1\*03:02 (8,6%), DQB1\*03:03 (6,2%), DQB1\*06:02 (11,9%) и DQB1\*06:03 (7,6%), входящие в состав анцестральных гаплотипов. Аллельное семейство DQB1\*02 представлено 4 аллелями, из них с высокой частотой определены DQB1\*02:02 (10,2%) и DQB1\*02:01 (7,3%), а аллели DQB1\*02:17 и DQB1\*02:40 обнаружены один раз. Аллельное семейство DQB1\*05 также представлено 4 аллелями: DQB1\*05:01 (14,9%), DQB1\*05:02 (5,0%), DQB1\*05:03 (1,6%) и DQB1\*05:04 (0,2%). В аллельном семействе DQB1\*04 преобладает аллель DQB1\*04:02 с частотой встречаемости 4,0%, второй аллель DQB1\*04:01 выявлен с частотой 0,1%, что ожидаемо, так как последний более распространен в азиатских популяциях.

Интересно отметить, что в изученной выборке выявлен новый аллель HLA-DQB1\*02:02:23, отличающийся от HLA-DQB1\*02:02:02:01 заменой одного нуклеотида в 6 кодоне 1 экзона.

**Вывод.** По иммуногенетическому профилю HLA-аллелей II класса популяция русских Челябинской области не отличается от русских Москвы и европейского населения России и Европы.

*А.А. Турганбекова, Ж.Ж. Жанзакова, Д.К. Баймукашева, Ж.К. Садуакас, Д.А. Хамитова,  
С.А. Абдрахманова*

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ HLA- DQA1\*, DPB1\* АНТИГЕНОВ СРЕДИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ ГСК РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

*РГП на ПХВ «Научно-производственный центр трансфузиологии», г.Астана*

**Введение.** В Республике Казахстан с 2011 года ведется работа по формированию национального регистра ГСК (гемопоэтических стволовых клеток). Стратегией HLA типирования для потенциальных доноров ГСК, вступивших в Регистр, является выполнение типирования на высоком разрешении по 5 HLA-генам. С 2019 года лаборатория перешла на NGS (next generation sequencing) типирование по 7-ми генам HLA, что дало возможность наиболее точного и подробного изучения наследования в области популяционной генетики в Казахстане.

**Цель.** Целью работы было изучение разнообразия аллелей генов HLA DQA1\*, DPB1\* у доноров гемопоэтических стволовых клеток, определенных при помощи NGS технологии.

**Материалы и методы.** В течение 2019-2022 года Национальным регистром ГСК было набрано 2764 взрослых потенциальных доноров ГСК. Проводили типирование генов HLA-A\*, B\*, C\*, DRB1\*, DQB1\*, DQA1\*, DPB1\* на высоком разрешении методом NGS секвенирования, экзонов с 1 по 8, на секвенаторе MiSeq (Illumina inc.) с применением наборов Hologate hla™ фирмы Omixon.

**Результаты.** При проведении анализа распространения данных генов было идентифицировано 15 аллельных вариантов в HLA-DQA1 и 40 аллелей в HLA-DPB1. Наиболее частые варианты среди DQA1 – DQA1\*05:01 (52%), DQA1\*03:01 (36,3%), DQA1\*01:02 (29,9%), DQA1\*01:01 (27,4%) и DQA1\*02:01 (26,8%); и среди HLA-DPB1 – DPB1\*04:01 (68,6%), DPB1\*02:01 (36,69%), DPB1\*04:02 (29,08%), DPB1\*03:01 (18,24%) и DPB1\*05:01 (13,09%). Наименьший процент распространения среди генов DQA1\*, DPB1\* составили DQA1\*02:01 и DPB1\*05:01, 26,8% и 13,09% соответственно.

**Выводы.** Данные по распределению частот аллелей генов DQA1\*, DPB1\* указывают на существование незначительного генетического разнообразия в Казахстане. Применение NGS секвенирования даст возможность в будущем проводить типирование по 7 генам. Полученные результаты является основой для расширения Национального регистра ГСК редкими генами, а также основой для проведения научных исследований в области популяционной генетики.

*Л.А. Фарафонова, Т.А. Астрелина, А.А. Давтян, А.С. Самойлов*

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ИНДУКЦИОННОЙ ТЕРАПИИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ С АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

*ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России, г. Москва*

**Введение.** В последние годы достигнуты значительные успехи в лечении множественной миеломы (ММ). Современные тенденции в лечении больных ММ характеризуются использованием комбинированных программ, содержащих новые препараты, уже на этапе индукционной терапии с последующей высокодозной химиотерапией (ВДХТ) и аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). ВДХТ с аутоТГСК в настоящее время признана стандартным методом лечения молодых пациентов с ММ. Высокие результаты аутоТГСК наблюдаются у больных, получающих в индукционной терапии новые препараты и достигшие после индукционной терапии не менее чем очень хорошей частичной ремиссии (охЧР).

**Цель настоящего исследования** – оценка эффективности различных видов индукций с ВДХТ с ауто-ТГСК (одиночной или тандемной) у пациентов с ММ.

**Материалы и методы.** В исследование включены пациенты, получившие ВДХТ с ауто-ТГСК (n = 44). Данная группа подразделялась на подгруппы в зависимости от вида индукции (с включением бортезомиба (n = 26) и без него (стандартная индукция) (n=18)) и количества проведенных ауто-ТГСК (одиночная (n=18) или тандемная (n=20)).

**Результаты.** Медиана общей выживаемости (ОВ) пациентов, получивших ВДХТ (n = 44), независимо от количества проведенных ауто-ТГСК, вида индукции, составила 56 месяцев, выживаемости без прогрессии (ВБП) 38 месяцев. При анализе ответов на терапию отмечается увеличение количества полных ремиссий (ПР) и очень хороших частичных ремиссий (охЧР) в подгруппе с бортезомибсодержащей индукцией по сравнению со стан-

дартной индукцией: после индукционной терапии количество ПР+охЧР 50% (38%+12%) против 6% (6%+0%) соответственно; после первой ВДХТ с аутоТГСК ПР+охЧР 73% (50%+23%) против 22% (16%+6%) соответственно; после тандемной аутоТГСК в подгруппе с включением в индукцию бортезомиба количество ПР+охЧР не увеличилось – 72%, но увеличилась частота ПР (61% против 50% после первой аутоТГСК), тогда как в подгруппе со стандартной индукцией ранее достигшие ПР и охЧР были потеряны, констатировано 100% ЧР. Данные результаты отразились на статистически значимом увеличении ВБП в подгруппе пациентов, получивших бортезомибсодержащую индукцию и тандемную аутоТГСК, по сравнению с пациентами со стандартной индукцией и также тандемной аутоТГСК (50 мес. против 9 мес. соответственно, p = 0,024), тогда как разница в ОВ оказалась незначимой (54 мес. против 82 мес., p = 0,14). В подгруппе с бортезомибсодержащей индукцией статистически значимо увеличение ВБП после тандемной аутоТГСК по сравнению с одиночной аутоТГСК (50 мес. против 20,5 мес., p = 0,007), тогда как различие в ОВ статистически незначимо (54 мес. против 44 мес. соответственно, p = 0,284). В группе пациентов, получивших одну ВДХТ с ауто-ТГСК, не отмечено статистически значимого влияния включения бортезомиба в индукцию терапии на ОВ и ВБП.

**Заключение.** Таким образом, включение в индукцию бортезомиба и выполнение тандемной ауто-ТГСК статистически значимо увеличивает ВБП пациентов с ММ, но не увеличивает ОВ. В связи с чем так актуален вопрос о выборе поддерживающей терапии после ВДХТ с аутоТГСК.

Е.Г. Хамаганова, Е.П. Кузьминова, А.Р. Абдрахимова, Е.А. Леонов, М.А. Лепехина,  
С.П. Хижинский, Т.В. Гапонова

## ОПТИМАЛЬНОЕ HLA-ТИПИРОВАНИЕ ДОНОРОВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА/ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

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

**Введение.** Оптимальное HLA-типирование и выявление донор-специфических антител (ДСА) имеют определяющее значение в выборе донора при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Анти-HLA антитела (АТ) могут образовываться к любой полиморфной HLA-специфичности. Идентификация анти-HLA АТ и использование виртуального перекрестного анализа необходимы для минимизации риска, связанного с ДСА (развитие несостоятельности трансплантата). Включение гена HLA-DPB1 в обязательное HLA-типирование и селекцию донора при алло-ТГСК рекомендовано Центром международных исследований в области трансплантации крови и костного мозга (CIBMTR, USA). Оптимальное HLA-типирование по рекомендации CIBMTR – типирование по 11 HLA-генам: А, -В, -С, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQA1, -DQB1, -DPA1 и -DPB1 с адекватным покрытием генов для получения результатов на уровне 2-польных назначений. Минимальные требования для алло-ТГСК – типирование по HLA-генам: А, -В, -С, -DRB1 и -DPB1 с адекватным покрытием генов для получения результатов на уровне Р- или G-групп с исключением нулевых аллелей.

**Цель работы** – проанализировать регистр доноров ГСК ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России и установить число оптимально HLA-типированных доноров, доноров, типированных в соответствии с минимальными требованиями CIBMTR, и прочих доноров.

**Материалы и методы.** В исследование включены все доноры регистра доноров КМ/ГСК ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России на 1-ое марта 2023 года. От всех доноров получено информированное согласие. Геномную ДНК выделяли из крови, собранной в пробирки с ЭДТА, в соответствии с рекомендациями производителей. HLA-типирование 7240 доноров проводили методом PCR-SSO с использованием платформы Lumiplex и реактивов Immucor (USA). Остальные доноры типированы методом секвенирования следующего поколения (next-generation sequencing – NGS) на платформе MiSeq (Illumina, USA) в соответствии с рекомендациями производителей наборов для HLA-типирования методом NGS (One Lambda, USA или Парсек, РФ).

**Результаты.** На 1-ое марта 2023 года регистр доноров ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России включал 16976 доноров. Все доноры были HLA-типированы как минимум по

пяти HLA-генам: А, -В, -С, -DRB1, -DQB1. Из них методом NGS по пяти и большему числу HLA-генов с результатами на уровне высокого разрешения типировано 9736 доноров (57,4%), что отвечает нынешним требованиям для включения в Федеральный Регистр доноров костного мозга/гемопоэтических стволовых клеток России. 3604 донора (21,3%) были типированы дополнительно, как минимум, по гену HLA-DPB1, т.е. отвечали минимальным требованиям CIBMTR по типированию для алло-ТГСК. Оптимально типированными в соответствии с критериями CIBMTR (по 11 HLA-генам: А, -В, -С, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQA1, -DQB1, -DPA1 и -DPB1 с адекватным покрытием генов для результатов на уровне 2-го поля) были 3485 доноров (20,5%). HLA-типирование с высоким разрешением требует определения нулевых (неэкспрессируемых) HLA-аллелей. Среди аллелей класса I нулевые выявлены 3 раза: HLA-A\*01:16N (инсерция в экзоне 3, сдвиг рамки считывания, образование стоп-кодона), HLA-B\*51:11N (инсерция в экзоне 4, сдвиг рамки считывания, образование стоп-кодона) и HLA-B\*57:79N (делеция в экзоне 4, сдвиг рамки считывания, образование стоп-кодона). Каждый из этих аллелей определен по одному разу. Среди аллелей класса II нулевые аллели были выявлены у генов HLA-DRB3, -DRB4 и -DRB5. Эти гены были типированы у 7264 доноров. Наиболее высокочастотным нулевым аллелем являлся HLA-DRB4\*01:03:01:02N (мутация в месте сплайсинга перед экзоном 2, приводящая к делеции 17 пар нуклеотидов, сдвигу рамки считывания и образованию стоп-кодона), этот аллель был определен 552 раза (у 3,8% гаплотипов). Три раза был определен аллель HLA-DRB5\*01:10N (делеция в экзоне 2, сдвиг рамки считывания, образование стоп-кодона), по одному разу HLA-DRB3\*02:80:01N (нонсенс-мутация в экзоне 2) и DRB5\*01:27N (делеция в экзоне 2, сдвиг рамки считывания, образование стоп-кодона).

**Выводы.** 1/5 часть доноров регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России соответствуют рекомендациям CIBMTR по оптимальному HLA-типированию для алло-ТГСК. Включение в Федеральный Регистр оптимально типированных HLA-A-B-C-DRB1-DRB3/4/5-DQA1-DQB1-DPA1-DPB1 доноров будет способствовать улучшению результатов неродственных алло-ТГСК в России. Некоторые нулевые аллели в популяции весьма распространены.

А.Г. Ханов<sup>1</sup>, С.И. Палухин<sup>2</sup>, И.В. Ищенко<sup>2</sup>, Э.Е. Кудинова<sup>2</sup>, Т.И. Труфанова<sup>2</sup>, О.А. Савченко<sup>2</sup>, Козаченко Я.В.<sup>2</sup>, Г.М. Перцева<sup>3</sup>, А.А. Борщева<sup>3</sup>, Е.А. Литвиненко<sup>3</sup>

## ЗНАЧЕНИЕ HLA-ТИПИРОВАНИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ И ДИАГНОСТИКЕ АНКИЛОЗИРУЮЩЕГО СПОНДИЛИТА

<sup>1</sup> ГБУ РО «Областная клиническая больница №2», г. Ростов-на-Дону

<sup>2</sup> ГБУ РО «Станция переливания крови», г. Ростов-на-Дону

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

**Введение.** Анкилозирующий спондилит (АС) принадлежит к аксиальным спондилоартритам, гетерогенной группе заболеваний с различными клиническими проявлениями. Отличительным признаком классического АС является рентгенологический сакроилеит. Распространенность АС в мире варьируется от 0,5% до 2,0%. Заболеванию свойственна наследственная предрасположенность. Известно, что риск развития АС ассоциирован с нали-

чием антигена HLA-B27. Частота выявления HLA-B27 у пациентов различных популяций с диагнозом АС составляет 90% и более.

В реальной практике диагностика АС занимает 7–9 лет, в большинстве случаев заболевание диагностируется на поздней стадии. Скрининг АС в настоящее время не рекомендован. Ранняя диагностика АС будет способствовать своевременной терапии, максимально длительному сохранению качества жизни паци-

ента. Поэтому актуальным является поиск новых биомаркеров, ассоциированных с развитием АС.

**Цель исследования.** Анализ результатов иммуногенетического обследования пациентов с АС для выявления предрасполагающих и протективных биомаркеров этого заболевания.

**Материалы и методы.** В исследование включены 37 пациентов с АС. Медиана возраста пациентов – 44 года, распределение пациентов по полу: мужчины – 24, женщины – 13. Начальную стадию АС имели 9 пациентов, развернутую – 26, позднюю – 2. Спондилит различных отделов позвоночника и сакроилеит присутствовали у всех обследованных пациентов. Высокая и очень высокая фаза активности (медиана BASDAI – 5,64) отмечена у 29 (78,3%) пациентов. Внеаксиальные проявления АС (энтезиты, артриты, остеофиты и др.) имелись у 36 пациентов (97,2%). Внеклеточные поражения органов (сердце, почки, гематологические нарушения, сахарный диабет и др.) отмечены у 16 пациентов (43,2%).

Определение у пациентов антигенов HLA-A, HLA-B выполнено серологическим методом с помощью реактивов фирмы Дилен. HLA-типирование локуса HLA-DRB1 проведено с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием реагентов HLA-ДНК-Тех. В контрольную группу включены 694 донора регистра доноров костного мозга, являющихся жителями Ростовского региона. HLA типирование доноров выполнено методом ПЦР с использованием сиквенс-специфичных праймеров с помощью реагентов фирмы Protrans (Германия).

Для оценки достоверности различий частот антигенов HLA-A, HLA-B, аллельных групп локуса HLA-DRB1 в обследуемой и контрольной группе использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса. Определялась величина относительного риска (RR), этиологическая (EF) и превентивная (PF) фракции.

**Результаты.** В группе больных АС установлено повышение частоты антигена HLA-A2 по сравнению с контрольной группой ( $\chi^2 = 3,85$ ;  $p < 0,05$ ). Частота HLA-B27 в группе пациентов значительно превышала частоту в контрольной группе – 75,7% против 10,5% ( $\chi^2 = 118,3$ ;  $p < 0,001$ ; RR – 26,0; EF – 0,73). Частота HLA-B44 в группе больных составила 2,7%, в контрольной группе – 18,0% ( $\chi^2 = 6,89$ ;  $p < 0,01$ ; RR – 0,13; PF – 0,12). Выявлено статистически достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение частоты антигенов HLA-B7 и HLA-B35 в группе пациентов. При анализе частот групп аллелей локуса HLA-DRB1 достоверных различий не выявлено.

При сравнении подгрупп HLA-B27-ассоциированных (28 человек) и HLA-B27-неассоциированных (9 человек) пациентов, различия в клинических показателях не выявлены, за исключением функциональной недостаточности суставов (ФНС). Медиана возраста в группе HLA-B27-ассоциированных больных составила 42,5 года, в группе HLA-B27-неассоциированных больных – 45 лет. ФНС наблюдалась у 10 человек из группы HLA-B27-ассоциированных и у 2 человек из группы HLA-B27-неассоциированных больных.

**Выводы.** В обследованной группе пациентов с диагнозом АС отмечалось значительное повышение частоты антигена HLA-B27 (75,7%,  $p < 0,001$ ). Позитивность по антигену HLA-B27 наблюдалась у 64,3% мужчин и 35,7% женщин.

Медиана возраста HLA-B27-ассоциированных пациентов с АС была несколько ниже, чем HLA-B27-неассоциированных больных (42,5 года против 45 лет). ФНС в группе HLA-B27-ассоциированных больных наблюдалась чаще, чем в группе HLA-B27-неассоциированных пациентов (35,7% против 22,2%).

Выявленное снижение частоты HLA-B44 ( $p < 0,01$ ) в группе больных АС может свидетельствовать о протективном действии в обследованной популяции.

*С.П. Хижинский, Е.П. Кузьмина, А.Р. Абдрахимова, Е.А. Леонов, М.А. Лепехина, Е.Г. Хамаганова*

## ЧАСТОТЫ HLA-ГАПЛОТИПОВ В-С И В-DRB1 В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СИСТЕМЫ КРОВИ И ДОНОРОВ РЕГИСТРА ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ»

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

**Введение.** Сведения о HLA-гаплотипах используются при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) для проверки результатов HLA-типирования и предсказания ожидаемых HLA-гаплотипов. Распределение HLA-гаплотипов, как HLA-аллелей, варьирует у разных этносов. Имеется пять основных блоков HLA-гаплотипов. Между генами, входящими в один блок, наблюдается сильное неравновесное сцепление (LD – linkage disequilibrium). Гены HLA-C и HLA-B входят бета блок, HLA-DRB1 – в блок дельта, однако между генами HLA-B и HLA-DRB1 также отмечается выраженное неравновесное сцепление.

**Цель исследования** – сравнить частоты HLA-гаплотипов генотипов В-С и В-DRB1 в семьях больных с показаниями к алло-ТГСК и доноров регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии».

**Материалы и методы.** Семьи 109 больных с назначением к HLA-типированию для проведения алло-ТГСК. Группа сравнения – 1510 потенциальных доноров регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии». ДНК получали с помощью станции выделения QIAGEN QIAcube (Германия) и наборов QIAGEN QIAamp DNA Blood Mini Kit (250) (Германия). HLA-типирование проводили методом секвенирования следующего поколения – NGS (Next Generation Sequencing). Библиотеки подготавливались с помощью наборов для секвенирования OneLambda AllType FASTplex NGS (США). Секвенирование проводилось на платформе Illumina MiSeq (США). Анализ полученных последовательностей проводился с помощью программного обеспечения TypeStream Visual Software (TSV) (One Lambda, США) и базы данных IPD-IMGT/HLA. Частоты HLA-

гаплотипов в семьях определялись прямым подсчетом. У доноров регистра частоты гаплотипов определялись с помощью алгоритма максимизации ожидания и программного обеспечения Arlequin 3.5.2.2.

**Результаты.** В семьях больных установлено 360 копий HLA-гаплотипов. У них выявлено 120 различных HLA-гаплотипов В-С. 75 HLA-гаплотипов наблюдались по одному разу, 13 – по два раза, 32 – 3 раза и более. Наиболее распространенный HLA-гаплотип в семьях, как и у доноров регистра, – В\*07:02:01:01-С\*07:02:01:03 был выявлен 34 раза (9,44% vs. 12,09% у доноров регистра,  $p > 0,05$ ). Второй по распространенности гаплотип в семьях – В\*18:01:01:02/05-С\*12:03:01:01 ( $n=20$ ; 5,56%) был только пятым у доноров с частотой 3,68% ( $p = 0,025$ ). Третий по распространенности гаплотип в семьях – В\*13:02:01:01-С\*06:02:01:01 ( $n=19$ ) был четвертым у доноров регистра (5,28% vs. 4,54%,  $p > 0,05$ ). Значимые отличия в частотах гаплотипов в семьях и регистре отмечены еще для пяти HLA-гаплотипов: В\*51:01:01:05/06-С\*15:02:01:01 (1,39% vs. 0,53%,  $p = 0,027$ ); В\*44:02:01:03-С\*07:04:01:01/03 (1,11% vs. 0,03%,  $p < 0,001$ ); В\*51:01:01:01/10-С\*14:02:01:01/04 (1,11% vs. 0,33%,  $p = 0,016$ ); В\*35:03:01:01-С\*04:01:01:11+ (0,83% vs. 0,26%,  $p = 0,046$ ); В\*48:01:01:01-С\*08:03:01:01 (0,83% vs. 0,23%,  $p = 0,029$ ). В семьях больных выявлено 234 различных HLA-гаплотипов В-DRB1. Из них 187 HLA-гаплотипов наблюдались по одному разу, 29 – по два раза, 9 – 3 раза и более. Наиболее распространенным HLA-гаплотипом в семьях и у доноров регистра оказался В\*07:02:01:01-DRB1\*15:01:01. В семьях он встретился 18 раз – 5% vs. 7,45% у доноров регистра,  $p > 0,05$ . Второй

по распространенности в семьях HLA-гаплотип В\*13:02:01:01-DRB1\*07:01:01:01 (n = 15; 4,17%) в группе доноров регистра был третьим у доноров частотой 3,97% (p > 0,05). Третьим в семьях был гаплотип В\*08:01:01:01-DRB1\*03:01:01 (n = 11, 3,06%). В группе доноров регистра он занял второе место с частотой 5,23% (p > 0,05). Значимые отличия между группами наблюдались в гаплотипах: В\*52:01:01:02-DRB1\*15:02P (2,25% vs 0,83%, p = 0,005); В\*38:01:01:01-DRB1\*13:01:01 (1,94% vs. 0,89%, p = 0,029); В\*35:01:01:05-DRB1\*13:01:01 (0,83% vs. 0,17%, p = 0,008); В\*37:01:01:01-DRB1\*10:01:01:03 (0,83% vs. 0,23%, p = 0,029); В\*18:01:01:02/05/17-DRB1\*13:01:01 (0,83% vs. 0,2%, p = 0,016); В\*44:02:01:03-DRB1\*11:01:01:03 (0,83% vs. 0,07%, p < 0,001).

**Выводы.** Сравнение частот HLA-гаплотипов В-С и В-DRB1 в семьях и в регистре доноров ФГБУ «НМИЦ гематологии» выявило некоторую недопредставленность в регистре отдельных HLA-гаплотипов, характерных для больных. Вероятно, это связано с тем, что в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России лечатся больные с различным этническим происхождением из всех Федеральных округов России, а в регистре доноров преобладают доноры из центральных областей России, самоопределившиеся как русские. Установленные HLA-гаплотипы генов В-С и В-DRB1 могут быть использованы в клинической практике в качестве референсных для анализа результатов HLA-типирования.

**С.П. Хижинский, Е.Г. Хамаганова, Е.П. Кузьминова, А.Р. Абдрахимова, Е.А. Леонов, М.А. Лепехина, О.С. Покровская, Л.А. Кузьмина, Е.Н. Паровичникова**

## **МУЛЬТИЛОКУСНЫЕ HLA-ГАПЛОТИПЫ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ С НАЗНАЧЕНИЕМ К ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

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

**Введение.** HLA-гаплотип – совокупность HLA-генов, лежащих на одной хромосоме. При трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) сведения о существующих HLA-гаплотипах используются в качестве справочных для проверки результатов HLA-типирования и предсказания ожидаемых HLA-гаплотипов. Семейные исследования являются золотым стандартом для изучения HLA-гаплотипов, так как гаплотипы, построенные на основе наблюдений за сегрегацией HLA-аллелей в пределах семьи, реально существуют в человеческой популяции.

**Цель работы** – установление HLA-A-B-C-DRB1-DRB3/DRB4/DRB5-DQA1-DQB1-DPA1-DPB1 - гаплотипов в семьях больных с назначением к HLA-типированию для проведения алло-ТГСК.

**Материалы и методы.** Исследование включало 109 семей больных с заболеваниями системы крови, в которых больным и членам их семей было назначено HLA-типирование для поиска донора алло-ТГСК. Все больные и члены их семей были типированы методом NGS в лаборатории тканевого типирования ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава по 11 HLA-генам – А, В, С, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1, DQB1, DPA1 и DPB1 на уровне высокого разрешения (двух полей). В каждой отдельной семье была проведена сегрегация HLA-A-B-C-DRB1-DRB3/DRB4/DRB5-DQA1-DQB1-DPA1-DPB1- гаплотипов. Частоты гаплотипов определялись прямым подсчетом.

**Результаты.** В исследованных семьях больных с назначением к алло-ТГСК выявлено 360 копий HLA-гаплотипов. Установлен 331 различный HLA-A-B-C-DRB1-DRB3/DRB4/DRB5-DQA1-DQB1-DPA1-DPB1- гаплотип. Наиболее распространенным HLA-гаплотипом являлся А\*03:01-В\*07:02-С\*07:02-DRB1\*15:01-DRB5\*01:01-DQA1\*01:02-DQB1\*06:02-DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P, выявленный 5 раз. Четыре раза был выявлен гаплотип А\*03:01-В\*35:01-С\*04:01-DRB1\*01:01-DQA1\*01:01-DQB1\*05:01/263-DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P, и по три раза два гаплотипа – А\*01:01-В\*08:01-С\*07:01-DRB1\*03:01-DRB3\*01:01-DQA1\*05:01-DQB1\*02:01/163N-DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P и А\*01:01-В\*08:01-С\*07:01-DRB1\*03:01-DRB3\*01:01-DQA1\*05:01-DQB1\*02:01/163N-DPA1\*02:01-DPB1\*01:01P. Семнадцать гаплотипов были определены по 2 раза: А\*01:01-В\*08:01-С\*07:01-DRB1\*03:01-DRB3\*01:01-DQA1\*05:01-DQB1\*02:01/163N-DPA1\*01:03-DPB1\*04:02P,

А\*02:01-В\*13:02-С\*06:02-DRB1\*07:01-DRB4\*01:03-DQA1\*02:01-DQB1\*02:02-DPA1\*02:01-DPB1\*17:01, А\*02:01-В\*07:02-С\*07:02-DRB1\*15:01-DRB5\*01:01-DQA1\*01:02-DQB1\*06:02-DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P, А\*24:02-В\*13:02-С\*06:02-DRB1\*07:01-DRB4\*01:03-DQA1\*02:01-DQB1\*02:02-DPA1\*01:03-DPB1\*04:02P, А\*01:01-В\*57:01-С\*06:02-DRB1\*07:01-DRB4\*01:03:01N-DQA1\*02:01-DQB1\*03:03-DPA1\*02:01-DPB1\*09:01P, А\*03:01-В\*07:02-С\*07:02-DRB1\*11:01-DRB3\*02:02-DQA1\*05:05-DQB1\*03:01/276N- DPA1\*01:03-DPB1\*06:01P, А\*24:02-В\*35:02-С\*04:01-DRB1\*11:04-DRB3\*02:02-DQA1\*05:05-DQB1\*03:01/276N-DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P, А\*25:01-В\*18:01-С\*12:03-DRB1\*04:01-DRB4\*01:03-DQA1\*03:01-DQB1\*03:02P-DPA1\*01:03-DPB1\*02:01, А\*25:01-В\*18:01-С\*12:03-DRB1\*13:01-DRB3\*01:01-DQA1\*01:03-DQB1\*06:03-DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P, А\*02:01-В\*41:02-С\*17:03-DRB1\*13:03-DRB3\*01:01-DQA1\*05:05-DQB1\*03:01/03:276N-DPA1\*01:03-DPB1\*03:01P, А\*66:01-В\*41:02-С\*17:03-DRB1\*13:03-DRB3\*01:01-DQA1\*05:05-DQB1\*03:01/03:276N- DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P, А\*24:02-В\*35:01-С\*04:01-DRB1\*01:01-DQA1\*01:01-DQB1\*05:01/263-DPA1\*01:03-DPB1\*04:02P, А\*30:01-В\*13:02-С\*06:02-DRB1\*07:01-DRB4\*01:03-DQA1\*02:01-DQB1\*02:02-DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P, А\*02:01-В\*27:05-С\*01:02-DRB1\*15:01-DRB5\*01:01-DQA1\*01:02-DQB1\*06:02-DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P, А\*02:01-В\*51:01-С\*14:02-DRB1\*14:03-DRB3\*01:01-DQA1\*05:03-DQB1\*03:01/03:276N-DPA1\*01:03-DPB1\*02:01, А\*02:01-В\*44:02-С\*05:01-DRB1\*04:01 -DRB4\*01:03-DQA1\*03:03-DQB1\*03:01/03:276N-DPA1\*01:03-DPB1\*04:01P и А\*69:01-В\*57:01-С\*06:02-DRB1\*07:01-DRB4\*01:03:01N-DQA1\*02:01-DQB1\*03:03-DPA1\*01:03-DPB1\*03:01P. Остальные HLA-A-B-C-DRB1-DRB3/DRB4/DRB5-DQA1-DQB1-DPA1-DPB1- гаплотипы были определены по одному разу.

**Выводы.** Впервые в России в семейных исследованиях установлены реальные мультилокусные (HLA-A-B-C-DRB1-DRB3/DRB4/DRB5-DQA1-DQB1-DPA1-DPB1) гаплотипы HLA-генов, типированных с высоким разрешением, которые могут быть использованы в клинической практике в качестве референсных для анализа результатов HLA-типирования и предсказания ожидаемых HLA-гаплотипов.

# ПРОГРАММА ДИАГНОСТИКИ ИНГИБИТОРНОЙ ФОРМЫ ГЕМОФИЛИИ «INCEPTION»



Программа представляет собой комплекс мер поддержки пациентов с установленным диагнозом гемофилия А / гемофилия В или при подозрении на приобретенную гемофилию А и направлена на обеспечение расширения доступа пациентов к лабораторной диагностике ингибиторной формы гемофилии, а также на повышение качества жизни таких пациентов и членов их семей. Программа включает два направления: направление лабораторной диагностики и направление транспортной поддержки.



## В РАМКАХ ПРОГРАММЫ ПРОВОДЯТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ:



При установленном диагнозе гемофилия А или при подозрении на приобретенную ингибиторную гемофилию А:

- Определение фактора VIII
- Определение ингибитора фактора VIII
- Анализ АЧТВ\*



При установленном диагнозе гемофилия В:

- Определение фактора IX
- Определение ингибитора фактора IX
- Анализ АЧТВ\*

\*АЧТВ-активированное частичное тромбопластиновое время



## ДЛЯ УЧАСТИЯ В ПРОГРАММЕ ВРАЧУ НЕОБХОДИМО:

1. Связаться с Координатором Программы по номеру горячей линии **8 (800) 100-28-73** по будням с 04:00 до 18:00 (по московскому времени)
2. Зарегистрироваться в Программе и получить сопроводительные документы по электронной почте
3. Проинформировать Пациента о Программе, получить подписанную форму Согласия на обработку персональных данных пациента. Заполнить необходимые документы, полученные от Координатора
4. Направить Координатору на электронную почту **gemo@aston-health.com** отсканированную форму Согласия на обработку персональных данных пациента
5. Сообщить Координатору тип биоматериала; согласовать дату забора образцов и дату и время приезда курьера
6. В случае необходимости транспортировки Пациента сообщить Координатору для организации данного сервиса
7. Осуществить забор образцов биоматериала и подготовить их для передачи курьеру, или направить пациента в медицинский офис сети «Инвитро», оформив заявку на горячей линии.
8. Передать курьеру заполненные документы вместе с биоматериалом для транспортировки
9. Результат анализа будет направлен врачу по электронной почте после выполнения исследования



**Отбор пациентов для участия в Программе проводит лечащий врач! Подробнее о критериях включения пациентов в Программу и сроках выполнения исследований можно узнать по телефону горячей линии 8-800-100-28-73 по будням с 04:00 до 18:00 по Московскому времени.**

Программа создана и функционирует при финансовой поддержке ООО «Такеда Фармасьютикалс», 119048, г. Москва, ул. Усачева, д. 2, стр. 1.  
Координатор программы — компания АО «Астон Консалтинг», 115184, г. Москва, ул. Малая Ордынка, д. 39, стр. 1, этаж 4, помещение 1, комната 2.

Информация для специалистов здравоохранения  
VV-MEDMAT-76821 Ноябрь 2022