



ISSN 1814-8069

18+

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

# ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ

THE BULLETIN OF HEMATOLOGY

Том XIX №4 2023

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

**ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ  
THE BULLETIN OF HEMATOLOGY**

**Том XIX      № 4      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) 309-79-81 (доб. 303)

Ответственный секретарь — доктор медицинских наук

Т. В. Глазанова, тел.: (812) 309-79-81 (доб. 303)

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 20.09.2023 г. Дата выхода 20.09.2023 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 528.

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

<i>Бессмельцев С.С.</i> ПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ .....	4
---	---

## ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

<i>Гавровская С.В., Сысоева Е.А., Минеева Н.В., Бессмельцев С.С.</i> АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕНОТИПА ПАЦИЕНТАМ С ХИМЕРИЗМОМ ПО АНТИГЕНАМ ЭРИТРОЦИТОВ СИСТЕМЫ РЕЗУС .....	19
--	----

<i>Гришина Г.В., Касьянов А.Д., Ласточкина Д.В., Кробинец И.И.</i> ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА ДОНАЦИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕРРИТИНА В ОРГАНИЗМЕ ДОНОРОВ .....	24
--	----

<i>Чеботкевич В.Н., Кулешова А.В., Грицаев С.В., Сидоркевич С.В., Бессмельцев С.С.</i> МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА КАК ПРЕДИКТОР РАЗВИТИЯ СИСТЕМНЫХ ИНФЕКЦИЙ КРОВОТОКА У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК: ДАННЫЕ РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ .....	30
---	----

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

<i>Пирогова О.В.</i> АМИЛОИДОЗ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ (AL-АМИЛОИДОЗ) .....	34
--	----

## ЛЕКЦИЯ

<i>Романенко Н.А.</i> ИММУННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ (ЛЕКЦИЯ) ЧАСТЬ 4 .....	53
--	----

# CONTENTS

## EDITORIAL ARTICLE

<i>Bessmeltsev S.S.</i> MAINTENANCE THERAPY FOR MULTIPLE MYELOMA .....	4
---	---

## ORIGINAL ARTICLES

<i>Gavrovskaya S.V., Sysoeva E.A., Mineeva N.V., Bessmeltsev S.S.</i> ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF THE USE OF MOLECULAR GENETIC TYPING TO DETERMINE THE PHENOTYPE OF PATIENTS WITH CHIMERISM BY RHESUS ERYTHROCYTE ANTIGENS .....	19
---	----

<i>Grishina G.V., Kasyanov A.D., Lastochkina D.V., Krobinec I.I.</i> INFLUENCE OF THE NUMBER OF DONATIONS ON THE CONTENT OF FERRITIN IN THE BODY OF DONOR .....	24
--	----

<i>Chebotkevich V.N., Kuleshova A.V., Gritsaev S.V., Sidorkevich S.V., Bessmeltsev S.S.</i> INTESTINAL MICROBIOTA AS A PREDICTOR OF THE DEVELOPMENT OF SYSTEMIC BLOOD FLOW INFECTIONS IN HEMATOLOGICAL CANCER PATIENTS WITH AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION: DATA FROM THE REAL-LIFE CLINICAL PRACTICE .....	30
--	----

## LITERATURE REVIEW

<i>Pirogova O.V.</i> AMYLOIDOSIS OF IMMUNOGLOBULIN LIGHT CHAINS (AL-AMYLOIDOSIS) .....	34
---	----

## LECTURE

<i>Romanenko N.A.</i> IMMUNE HEMOLYTIC ANEMIA (LECTURE) PART 4 .....	53
---	----

Бессмельцев С.С.

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

## ПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

### Резюме

Постиндукционная поддерживающая терапия как у молодых, так и пожилых пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой не вызывает сомнений. В статье представлены результаты клинических исследований по оценке эффективности ингибиторов протеасом и иммуномодулирующих препаратов в постиндукционной поддерживающей терапии пациентов с множественной миеломой разного возраста. Представлен анализ эффективности бортезомиба, иксазомиба,

леналидомида и талидомида. Показано, что поддерживающая терапия существенно увеличивает выживаемость больных множественной миеломой, в том числе при высоком риске. Статья представляет особый интерес для врачей-гематологов, терапевтов, клинических ординаторов и студентов медицинских вузов.

**Ключевые слова:** множественная миелома, иксазомиб, бортезомиб, леналидомид, беспрогрессивная выживаемость, высокий риск, стандартный риск.

*Bessmeltsev S.S.*

*Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology*

## MAINTENANCE THERAPY FOR MULTIPLE MYELOMA

### Abstract

Postinduction maintenance therapy in both young and elderly patients with newly diagnosed multiple myeloma is beyond doubt. The article presents the results of clinical studies to evaluate the effectiveness of proteasome inhibitors and immunomodulatory drugs in postinduction maintenance therapy for patients with multiple myeloma of different ages. An analysis of the effectiveness of bortezomib, ixazomib, lenalidomide

and thalidomide is presented. It has been shown that maintenance therapy significantly increases the survival rate of patients with multiple myeloma, including at high risk. The article is of particular interest to hematologists, therapists, clinical residents and students of medical universities.

**Keywords:** multiple myeloma, ixazomib, bortezomib, lenalidomide, progression-free survival, high-risk, standard risk.

Увеличение беспрогрессивной (PFS) и общей выживаемости (OS) больных множественной миеломой (ММ), наблюдаемое в последние годы, связано с парадигмой долгосрочных подходов к лечению, включающей новые лекарственные препараты в индукции, аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) и длительную/непрерывную поддерживающую терапию, что позволяет контролировать течение болезни в сравнении с фиксированными подходами к терапии.

В 90-х годах XX столетия большую надежду на фундаментальные перемены в прогнозе ММ возлагали на антипролиферативное и иммуномодулирующее действие интерферонов. С этой же целью пытались использовать кортикостероиды, а иногда четырехдневные циклы мелфалана с преднизолоном. Однако длительную терапию этими препаратами ограничивали тяжелые токсические эффекты и высокая частота прекращения лечения [1-3].

Иммуномодулирующие препараты, такие как талидомид и леналидомид, ингибиторы протеасом, такие как бортезомиб и иксазомиб, показали преимущество при назначении их в качестве поддер-

живающей терапии после аутоТГСК. Талидомид и леналидомид признаны эффективным средством лечения ММ в индукционной и поддерживающей терапии. Эффективность их при множественной миеломе связана со способом действия. Эти препараты нацелены на специфический белок цереблон, выполняющий в клетках функцию E3-убиквитинлигазы, что приводит как к онкогенным эффектам на ранней стадии, так и к иммуномодулирующим эффектам, благоприятным для долгосрочного контроля опухоли.

В нескольких исследованиях фазы III обнаружено существенное улучшение качества ответа, увеличение беспрогрессивной выживаемости больных, получавших иммуномодулирующий препарат талидомид в качестве консолидации или поддерживающей терапии после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) [4-7]. Сходные данные выявлены и по результатам крупных мета-анализов [4,8]. Было обращено внимание на отчетливое увеличение времени до прогрессирования ММ в посттрансплантационном периоде у больных, получавших поддерживающую терапию

талидомидом. Так, по результатам клинического исследования III фазы NOVON-50, талидомид пролонгировал выживаемость без событий с 22 мес. до 34 мес. ( $p < 0,001$ ) и беспрогрессивную выживаемость (PFS) с 25 мес. до 34 мес. ( $p < 0,001$ ) [7]. Мета-анализ, представленный Международной рабочей группой по миеломе (IMWG), продемонстрировал снижение риска прогрессирования или смерти на 35% [8]. Однако у пациентов с цитогенетическими аномалиями высокого риска результаты были хуже. Что касается общей выживаемости (OS), то в большинстве исследований не было обнаружено существенных различий в сравнении с группой больных, не получавших талидомид. Между тем, значительное улучшение общей выживаемости выявлено в мета-анализах IMWG (отношение рисков –  $HR = 0,84$ ) [8] и MRC Myeloma IX ( $HR = 0,75$ ) [4]. В то же время увеличение общей выживаемости было отмечено только у пациентов с благоприятным прогнозом [гипердиплоидия,  $t(6;14)$ ,  $t(11;14)$ ] при отсутствии таких цитогенетических аномалий, как  $t(4;14)$ ,  $t(14;16)$ ,  $t(14;20)$  и  $del(17p)$  [4]. Кроме того, плохая переносимость талидомида, частое развитие периферической нейропатии 3-4 ст. ограничивало продолжительность лечения, при этом частота досрочного прекращения поддерживающей терапии достигала 84%. Кроме токсичности талидомида выделено еще одно важное обстоятельство: его длительное использование может привести к развитию более резистентного рецидива. По этой причине талидомид рекомендуется использовать в качестве поддерживающей терапии не более 1 года.

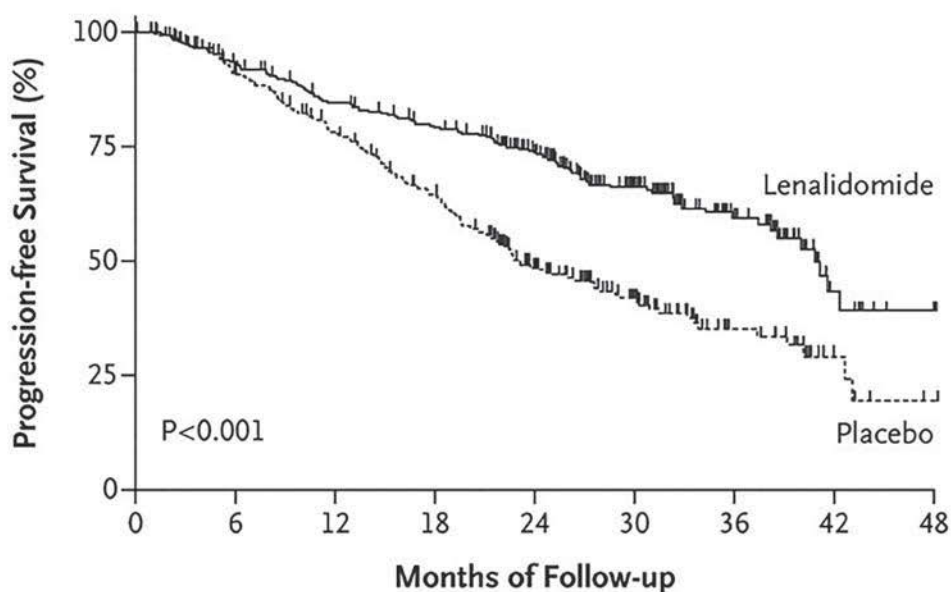
Поддерживающее лечение леналидомидом считается стандартом лечения всех пациентов с ММ после аутоТГСК (I, A по версии ESMO 2021) [9]. В исследовании Intergroupe Francophone du Myélome 2005-02 медиана PFS составила 41 мес. в группе пациентов, получавших поддерживающую терапию леналидомидом до прогрессирования заболевания, по сравнению с 23 мес. у пациентов, получавших плацебо.

Леналидомид имеет меньше побочных эффектов, чем талидомид, что позволяет проводить длительное лечение и успешнее контролировать заболевание. Мета-анализ, включивший более 1200 пациентов с медианой наблюдения 79,5 мес., показал, что поддерживающая терапия леналидомидом обеспечивает более чем 2-кратное увеличение PFS (52,8 мес. по сравнению с 23,5 мес.), а преимущество OS по сравнению с плацебо составило 2,5 года. Однако не было никакой пользы у пациентов с ММ ISS-III или цитогенетическими аномалиями высокого риска [10]. Между тем, в исследовании MRC-XI, в котором 1137 пациентов получали поддерживающую терапию леналидомидом и 834 пациента находились под наблюдением, результаты иные. Медиана выживаемости без прогрессирования составила 39 мес. (95%CI: 36–42) в группе больных с леналидомидом

и 20 мес. (95%CI: 18-22) – находящихся под наблюдением ( $HR = 0,46$  [95%CI: 0,41–0,53];  $p < 0,0001$ ) [11]. Медиана общей выживаемости не была достигнута (95%CI: 66–не достигнута) среди больных с леналидомидом и в группе наблюдения (95%CI: 61–не достигнута). Сходными оказались и показатели 3-летней выживаемости. Так, общая выживаемость за 3 года в группе пациентов, получавших леналидомид, составила 78,6%, и 75,8% – в группе наблюдения ( $HR = 0,87$  [95% CI: 0,73–1,05];  $p = 0,15$ ). В то же время у пациентов с высоким цитогенетическим риском 3-летняя OS составила 75% в группе леналидомида по сравнению с 64% в группе наблюдения, а у пациентов сверхвысокого риска – 63% против 43,5% соответственно. Правда, к этим результатам следует относиться с осторожностью, поскольку пациенты, участвующие в исследовании MRC-XI и получавшие поддерживающую терапию леналидомидом, ранее находились на иммуномодулирующих препаратах и были чувствительны к ним. Кроме того, определение пациентов с высоким риском было различным в мета-анализе [10] и в исследовании MRC-XI [11]; в метаанализе цитогенетика высокого риска включала только пациентов с  $t(4;14)$  и  $del17p$ , в то время как в исследовании MRC-XI пациенты были классифицированы на три группы цитогенетического риска: стандартный риск, высокий риск или сверхвысокий риск (неблагоприятные цитогенетические аномалии были определены как амплификация  $1q$ ,  $t(4;14)$ ,  $t(14;16)$ ,  $t(14;20)$ , или  $del(17p)$ ) [10,11]. Следует также отметить, что данные Myeloma XI показали преимущество PFS при поддерживающей терапии леналидомидом независимо от статуса минимальной остаточной болезни и продемонстрировали повышенную скорость конверсии из МОБ-положительного к МОБ-отрицательному статусу с леналидомидом (32%) по сравнению с наблюдением (4%).

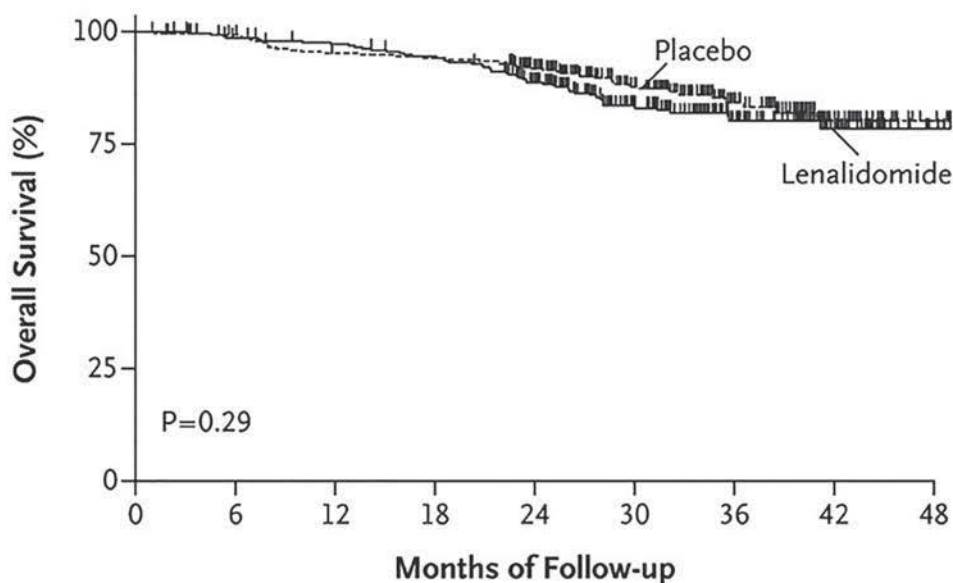
Подтверждение эффективности поддерживающей терапии леналидомидом получено и в исследовании CALGB 100104, в котором пациенты были рандомизированы в группы, получающие поддерживающую терапию леналидомидом ( $n = 231$ ) или плацебо ( $n = 229$ ) после выполнения аутоТГСК [12]. При медиане наблюдения 34 мес. у 37% пациентов, получавших леналидомид, по сравнению с 58%, получавших плацебо, наблюдалось прогрессирование заболевания или они умерли. Медиана времени до прогрессии в группе больных с леналидомидом составила 46 мес. по сравнению с 27 мес. в группе больных с плацебо ( $p < 0,001$ ). Вторые первичные злокачественные опухоли возникли у 18 пациентов, получавших леналидомид (8%), и у 6 пациентов, получавших плацебо (3%). Анализ выживаемости после 91-месячного периода наблюдения показал, что медиана времени до прогрессирования ММ составила 57,3 мес. (95%CI: 44,2–73,3) при приеме леналидомида и 28,9 мес. (95%CI: 23,0–36,3) – плацебо

A



No. at Risk									
Lenalidomide	307	267	236	216	172	103	49	10	1
Placebo	307	255	211	169	102	57	22	6	1

B



No. at Risk									
Lenalidomide	307	298	292	282	240	162	92	38	5
Placebo	307	297	282	279	247	167	87	31	6

Рисунок 1. Кривые выживаемости без прогрессии (Progression-free Survival) и общей выживаемости (Overall Survival) больных ММ, получавших поддерживающую терапию леналидомидом (Lenalidomide), и в группе плацебо (Placebo) [14].

(HR=0,57; 95% CI 0,46–0,71;  $p < 0,0001$ ) [13]. Наиболее частыми нежелательными явлениями (НЯ) 3-4 степени тяжести при поддержке леналидомидом, по сравнению с плацебо, были нейтропения (50% против 18%) и тромбоцитопения (15% против 5%). Увеличилась частота вторых первичных злокачественных новообразований (гематологические плюс солидные опухоли): на фоне леналидомида – 14%, плацебо – 4%.

Данные международного рандомизированного двойного слепого исследования III фазы IFM 2005-02 ( $n=614$ ) показали, что у пациентов, получавших леналидомид в качестве консолидирующей терапии после аутоТГСК с последующим приемом леналидомида в качестве поддерживающей терапии, улучшились частота и качество ответов [14]. После медианы наблюдения в 30 мес. у 264 пациентов наблюдалось прогрессирование заболевания (104 в группе леналидомида и 160 в группе плацебо). При этом медиана PFS составила 41 мес. в группе леналидомида и 23 мес. в группе плацебо (HR=0,50;  $p < 0,001$ ). Вероятность выживания без прогрессирования в течение 3 лет после рандомизации составила 59% у тех, кто получал леналидомид, и 35% у тех, кто получал плацебо. В то же время общая выживаемость через 3 года после рандомизации была аналогичной в двух исследуемых группах (80% в группе с леналидомидом и 84% в группе плацебо; HR=1,25;  $p=0,29$ ) (рис. 1). Медиана выживаемости не была достигнута ни в одной из групп. Повышенная частота вторых первичных злокачественных заболеваний наблюдалась в обеих группах (у 32 пациентов из группы леналидомида и у 12 пациентов из группы плацебо) [14].

Данные исследования MM-015 III фазы показывают, что поддерживающая терапия леналидомидом после первичной терапии по схеме MPL (мелфалан/преднизон/леналидомид) значительно снижала риск прогрессирования заболевания и увеличивала PFS у больных в возрасте  $\geq 65$  лет [15]. Однако беспрогрессивная выживаемость пациентов, получавших MPL с последующим поддерживающим приемом леналидомида (MPL-L), была значительно дольше (медиана 31 мес.) по сравнению с двумя другими группами больных, не получавшими поддерживающей терапии: MPL – медиана 14 мес.; HR=0,49 ( $p < 0,001$ ), MP – медиана 13 месяцев; HR=0,40 ( $p < 0,001$ ); в группах MPL и MP различий не выявлено. Причем, установлено, что поддерживающая терапия леналидомидом улучшала PFS на 66% по сравнению с плацебо, независимо от возраста [15]. 3-летняя OS составила 70% в группе MPL-L, 62% – MPL и 66% – MP. Среди нежелательных явлений авторы обращают внимание на гематологическую токсичность. Нейтропения 4 степени развилась у 35% больных из группы MPL-L, 32% – MPL и 8% – MP; тромбоцитопения 4 степени – у 11, 12 и 4% пациентов соответственно. Тромбозы глубоких вен 3 или 4 степени тяжести наблюдались у 3% боль-

ных, получавших леналидомид и у 1% – MP. Во всех группах наблюдалось развитие вторичных гематологических опухолей: остро миелоидного лейкоза (4 больных из группы MPL-L и 2 – MPL), миелодиспластического синдрома (1 – из группы MPL-L, 3 – MPL, 1 – MP), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (1 – из группы MPL-L), хронического миеломоноцитарного лейкоза (1 – из группы MPL-L). В целом частота вторых опухолей за 3-летний период наблюдения при лечении MPL-L составила 7%. Различные солидные опухоли возникли с одинаковой частотой (5 – в группе MPL-L, 4 – MPL, 3 – MP).

В мета-анализ 4 рандомизированных контролируемых исследований вошли пациенты, получавшие поддерживающую терапию леналидомидом или плацебо, или находившиеся только под наблюдением, как после трансплантации, так и без нее [16]. Анализ показал, что у пациентов, получавших поддерживающую терапию леналидомидом, значительно улучшилась PFS (HR=0,49;  $p < 0,001$ ) и наблюдалась тенденция к пролонгированию OS (HR=0,77;  $p=0,071$ ) по сравнению с отсутствием поддерживающей терапии или плацебо. Однако, как и в предыдущем исследовании [15], обращается внимание на частоту тяжелой (3-я и 4-я степени тяжести) нейтропении (HR=4,9,  $p < 0,001$ ), тромбоцитопении (HR=2,7,  $p < 0,001$ ), утомляемости (HR=2,3,  $p < 0,01$ ), тромбозов глубоких вен и/или эмболии легочной артерии (HR=3,2,  $p < 0,02$ ), а также повышенный риск вторичных злокачественных неоплазий. Поэтому вопрос о том, следует ли регулярно предлагать пациентам поддерживающую терапию леналидомидом, является спорным. По мнению некоторых экспертов, на данный момент поддерживающую терапию леналидомидом следует считать стандартной для пациентов с высоким риском. Для пациентов с заболеванием низкого риска следует обсудить соотношение риска и пользы от поддерживающей терапии леналидомидом в сравнении с осторожным ожиданием, пока у нас не будет больше данных о преимуществах общей выживаемости.

Наряду с иммуномодуляторами в качестве поддерживающей терапии применяют ингибиторы протеасом. В одном из крупных рандомизированных исследований поддерживающая терапия бортезомибом показала преимущество PFS по сравнению с поддерживающей терапией талидомидом. При медиане наблюдения 41 мес. медиана PFS была больше в группе пациентов, получавших в индукции программу PAD + бортезомиб, чем VAD + талидомид (медиана 35 vs 28 мес.;  $p=0,002$ ). Улучшены показатели PFS и OS у больных с делецией 17p13 (медиана PFS в группе с поддержкой бортезомибом составила 22 мес., талидомидом – 12 мес.;  $p=0,01$ . Медиана общей выживаемости при наблюдении в течение 54 мес. не достигнута при поддержке бортезомибом и составила 24 мес. при поддержке талидомидом ( $p=0,003$ ). Однако следует отметить, что индукционная те-



рапия в этом исследовании не была одинаковой в двух группах лечения [PAD по сравнению с VAD соответственно] [17]. Тем не менее, это исследование привлекает к себе внимание тем, что долгосрочное лечение бортезомибом, по-видимому, преодолело неблагоприятное воздействие del(17p). Так, 8-летняя общая выживаемость при поддерживающей терапии бортезомибом в этой подгруппе больных составила 52% против 54% у пациентов без этой цитогенетической аномалии. Правда, совершенно иная ситуация наблюдалась в случае выявления других цитогенетических аномалий высокого риска – t(4;14) и амплификация 1q21 [17]. Возможно, это было ассоциировано с дополнительной субклональной гетерогенностью, что свидетельствует о необходимости комбинированных стратегий непрерывной терапии у пациентов с высоким риском. В то же время, при назначении бортезомиба в индукционной терапии пациентов с ВДММ, выживаемость больных промежуточного риска оказалась сходной с таковой у больных стандартного риска [18]. Jagannathu A. et al. в своих исследованиях указывают на преодоление бортезомибом негативного влияния на прогноз транслокации t(4;14) и del(13q) [19,20].

По результатам исследования UPFRONT III фазы, поддерживающая терапия бортезомибом после лечения первичной терапией на основе бортезомиба в целом переносится удовлетворительно. В это исследование были включены пациенты с ВДММ, не являющиеся кандидатами на аутоТГСК. Пациенты были рандомизированы 1:1:1 для получения в течение 24 недель восьми 21-дневных циклов индукции VD, VTD или VMP (VD: внутривенное введение

бортезомиба 1,3 мг/м<sup>2</sup>, дни 1, 4, 8 и 11 плюс пероральный дексаметазон 20 мг, дни 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11 и 12 [циклы 1-4] и дни 1, 2, 4 и 5 [циклы 5-8]; VTD: бортезомиб и дексаметазон также плюс талидомид перорально по 100 мг, дни с 1 по 21; VMP: бортезомиб, как и прежде, плюс перорально мелфалан 9 мг/м<sup>2</sup> и преднизолон 60 мг/м<sup>2</sup> с 1 по 4 дни, каждый второй цикл). В течение следующих 25 недель (пять 35-дневных циклов) проводилась поддерживающая терапия внутривенным введением бортезомиба 1,6 мг/м<sup>2</sup>, дни 1, 8, 15 и 22. Результаты показывают, что ответы, включая ПО и ≥охЧО, улучшились после продолжения лечения бортезомибом во всех группах больных [21]. После медианы наблюдения 42,7 мес. медиана выживаемости без прогрессирования при VD, VTD и VMP составила 14,7, 15,4 и 17,3 мес. соответственно, а медиана общей выживаемости – 49,8, 51,5 и 53,1 мес., то есть без существенных различий между методами лечения (рис. 2).

Общий уровень ответов составил 73% (VD), 80% (VTD) и 70% (VMP). Несмотря на то, что все схемы, содержащие бортезомиб, давали хорошие результаты, VTD и VMP не имело преимуществ перед VD у пациентов, не подходящих для аутоТГСК. Нежелательные явления были более частыми среди больных, получавших VTD, чем при VD или VMP. Наиболее распространенным нежелательным событием была периферическая нейропатия: VD – 50%; VTD – 60%; VMP – 47%. Частота инфекций 3-й степени составила 21%, 16% и 18%, а сепсис 3-й степени был зарегистрирован у 3%, 3% и 2% пациентов соответственно. По мнению авторов исследования, поддерживающая терапия бортезомибом приводила к ограниченной

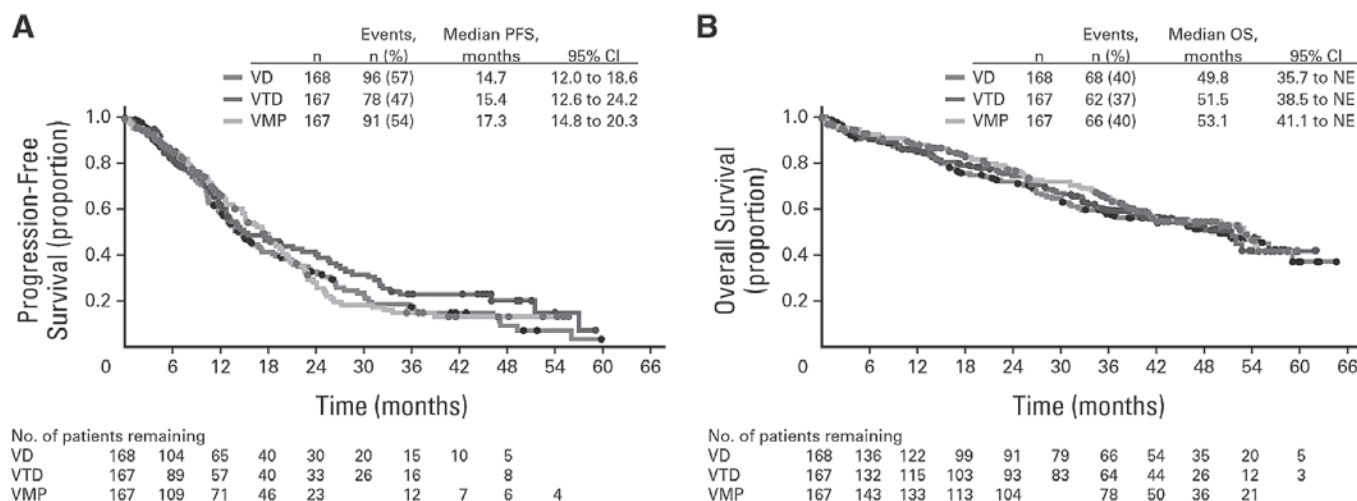


Рисунок 2. Карпан-Мейер анализ (А) беспрогрессивной (PFS) и (В) общей выживаемости (OS) больных ММ [21].

Примечание. NE – не оценивалось; VD - бортезомиб-дексаметазон; VMP – бортезомиб-мелфалан-преднизолон; VTD - бортезомиб-талидомид-дексаметазон.

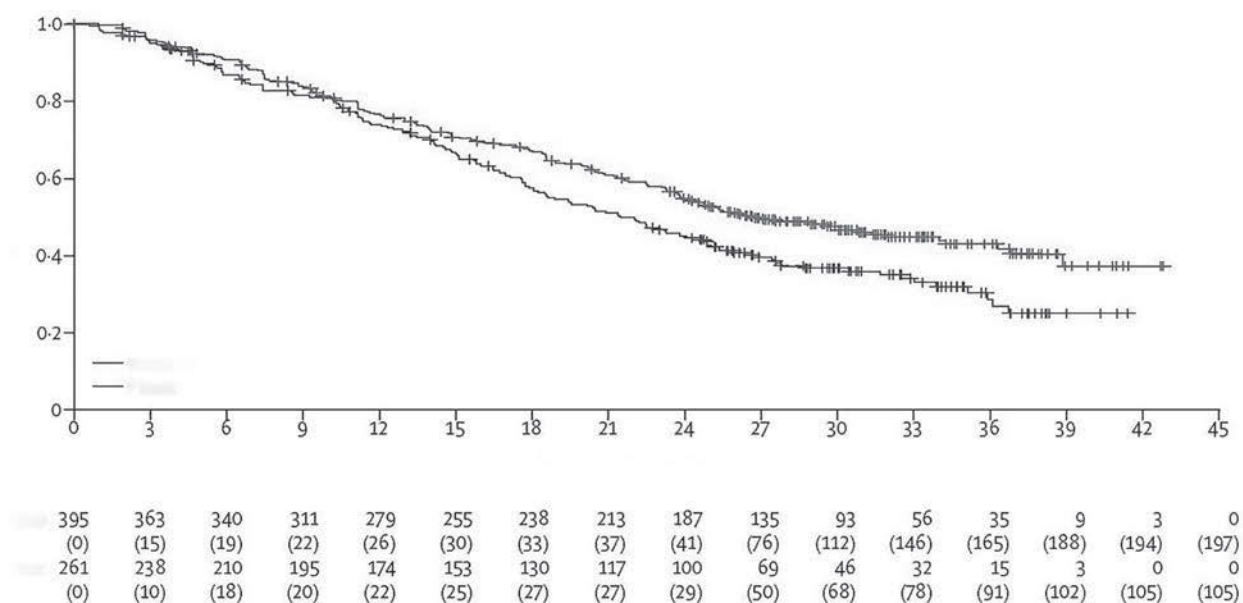


Рисунок 3. Анализ выживаемости без прогрессирования заболевания по методу Каплана-Мейера в популяции всех включённых в исследование пациентов, получивших по крайней мере одну дозу исследуемого препарата [26].

дополнительной токсичности по сравнению с индукционной терапией, при сохранении ответов [21]. Более низкая токсичность и частота прекращения лечения, а также большее количество завершённых циклов при использовании схемы VD по сравнению с VTD и VMP могут компенсировать возможный дефицит эффективности при VD при отсутствии третьего лекарственного средства.

В одном из одноцентровых исследований показано, что при высоком риске хорошо зарекомендовал себя в консолидации и поддерживающей терапии после аутоТГСК триплет VRd. Так, среди пациентов с ММ высокого риска [(del17p, del1p, t(4;14), t(14;16)] частота очень хорошего частичного ответа (охЧО) превысила 96%, медиана PFS составила 32 мес., а 3-летняя OS – 93%) [22]. Однако необходимо отметить, что роль терапии на основе бортезомиба исключительно в качестве поддерживающей терапии не может быть экстраполирована из этих исследований, в которых пациенты получили индукцию на основе бортезомиба. В то же время приводится примечательный факт для реальной клинической практики. В ретроспективном одноцентровом анализе из клиники Мейо, поддержка бортезомибом после аутоТГСК продемонстрировала преимущество PFS в реальных условиях у пациентов с высоким риском [23], что, безусловно, увеличивает шансы бортезомиба при выборе варианта поддерживающей терапии. Между тем, необходимость парентерального введения и профиль токсичности бортезомиба (в первую очередь частое развитие периферической нейропатии) являются ограничительным фактором для длительного использования бортезомиба в кли-

нической практике. Рекомендуемая длительность поддерживающей терапии бортезомибом не более 2 лет [24].

Поскольку возможность проведения поддерживающей терапии бортезомибом в рутинной клинической практике ограничена, необходима его замена. В настоящее время для этих целей получает все большее распространение пероральный ингибитор протеасомы иксазомиб.

Иксазомиб зарегистрирован для лечения рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломы в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном. Однако существует ряд клинических исследований, по результатам которых иксазомиб эффективен и в первой линии терапии множественной миеломы, и в поддерживающей терапии, причем независимо от возраста. Поэтому NCCN 2022, основываясь на результатах клинических рандомизированных исследований [25], рекомендует в качестве поддерживающей терапии, наряду с леналидомидом и бортезомибом, использовать иксазомиб (категория 2B).

В двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании фазы III TOURMALINE-MM3 иксазомиб назначался в поддерживающей терапии пациентам с ММ в посттрансплантационном периоде [26]. Пациентов рандомизировали в соотношении 3:2 для получения иксазомиба, либо соответствующего плацебо в форме капсул не позднее, чем через 115 дней после проведения трансплантации. Рандомизацию стратифицировали по схеме индукционной терапии (ингибитор протеасом без иммуномодулирующего

препарата или иммуномодулирующий препарат без ингибитора протеасом или ингибитор протеасом в комбинации с иммуномодулирующим препаратом), стадии по ISS до начала индукционной терапии (I по сравнению с II или III) и ответу на лечение после трансплантации (полный ответ или очень хороший частичный ответ по сравнению с частичным ответом) при скрининге. Пациенты получали иксазомиб внутрь в дозе 3 мг, или соответствующее плацебо, в 1, 8 и 15 дни 28-дневных циклов. Если в течение первых четырех циклов пациент удовлетворительно переносил лечение, с 5 цикла дозу препарата увеличивали до 4 мг. Пациенты продолжали лечение до 24 мес. (эквивалентно 26 циклам) или до прогрессирования заболевания или развития неприемлемой токсичности.

При медиане последующего наблюдения 31 мес. в группе пациентов на иксазомибе выявлено снижение риска прогрессирования заболевания или смерти на 28% по сравнению с группой плацебо, при этом медиана беспрогрессивной выживаемости составила 26,5 мес. (95% CI: 23,7-33,8) и 21,3 мес. (95% CI: 18,0-24,7) соответственно (рис. 3).

При анализе результатов в выделенных подгруппах больных обнаружено увеличение PFS при использовании иксазомиба по сравнению с плацебо у пациентов в возрасте  $\geq 60$  лет ( $p=0,012$ ) и пациентов с ММ III стадии по ISS до начала индукции ( $p=0,047$ ). В группе пациентов с высоким цитогенетическим риском доля пациентов, достигших медианы беспрогрессивной выживаемости через 24 месяца, была численно выше при применении иксазомиба, чем плацебо (46% vs. 24%). У 46% и 32% пациентов соответственно, достигших после трансплантации охЧО или частичного ответа (ЧО), в период поддерживающей терапии глубина ответа увеличилась. На момент включения в исследование, у большинства пациентов, статус минимальной остаточной болезни (МОБ) был положительным; доли пациентов с положительным или отрицательным МОБ-статусом, были сопоставимы между группами лечения. Медиана PFS у пациентов с МОБ [-] на момент включения в исследование составила 38,6 мес. (95%CI: 33,8 – не подлежит оценке) в группе иксазомиба по сравнению с 32,5 мес. (95%CI: 19,3 – не подлежит оценке) в группе плацебо. Среди участников с положительным статусом МОБ, 12% пациентов в группе иксазомиба и 7% пациентов в группе плацебо достигли отрицательного статуса в период поддерживающей терапии. Однако обращало на себя внимание, что наиболее значимое увеличение PFS наблюдалось среди больных, находящихся на иксазомибе, независимо от статуса МОБ на момент включения в исследование [26].

Наиболее частыми гематологическими нежелательными явлениями (НЯ) были нейтропения, тромбоцитопения и анемия, негематологическими – инфекции, нарушения со стороны желудоч-

но-кишечного тракта и высыпания на коже. Периферическая нейропатия зарегистрирована у 19% пациентов в группе иксазомиба и у 15% пациентов в группе плацебо. Нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы были зарегистрированы у 3% и 2% соответственно. Случаев тромбоза в группе иксазомиба не было, в группе плацебо тромбоз возник у одного пациента ( $<1\%$ ). Случаи тромбоцитопении чаще регистрировались в группе иксазомиба, чем в группе плацебо. В обеих группах нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта в большинстве случаев были низкой степени тяжести, и чаще регистрировались в группе иксазомиба, чем в группе плацебо. Опоясывающий герпес зарегистрирована у 10% и у 5% соответственно. На фоне профилактического лечения опоясывающий герпес отмечался реже (у 2% и 1% соответственно) [26].

Таким образом, в исследовании TOURMALINE-MM3 убедительно продемонстрирована польза поддерживающей терапии иксазомибом у пациентов в посттрансплантационном периоде. Увеличение PFS было постоянным у пациентов с характеристиками заболевания, связанными с неблагоприятным прогнозом, в том числе с ISS-III и наличием цитогенетических факторов высокого риска. Более того, лечение характеризовалось хорошей переносимостью с минимальным увеличением частоты развития серьезных нежелательных явлений, периферической нейропатии и тромбозов, при этом на момент проведения этого анализа не было выявлено увеличения частоты развития других первичных злокачественных новообразований после периода наблюдения 31 мес. (медиана). Частота досрочного прекращения иксазомиба по причине нежелательных явлений, возникших во время лечения, составила 7%. Серьезным аргументом в пользу иксазомиба является возможность достижения отрицательного статуса МОБ. Доля пациентов, достигших МОБ [-] на фоне лечения иксазомибом, была 1,7 раз выше, чем в группе плацебо. Более того, медиана времени до развития документально подтвержденного положительного статуса МОБ, прогрессирования заболевания или смерти также была значимо выше.

Качество жизни, связанное со здоровьем (HRQoL), особенно важно во время поддерживающей терапии пациентов с множественной миеломой после трансплантации, когда симптомы заболевания ограничены. F. Schjesvold et al. подробно оценили влияние поддерживающей терапии иксазомибом по сравнению с плацебо на HRQoL больных в исследовании TOURMALINE-MM3. Ими установлено, что в дополнение к улучшению выживаемости без прогрессии в группе больных с иксазомибом HRQoL поддерживалось в обеих группах больных на вполне удовлетворительном уровне, то есть активное лечение иксазомибом не оказало негативного влияния на HRQoL [27].

В исследовании фазы III TOURMALINE-MM4

**ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ**

(NCT02312258) оценивали поддерживающую терапию препаратом иксазомиб у пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой, которым не проводилась аутоТГСК [28]. Используя централизованную рандомизацию через интерактивную систему голосового/веб-ответа, пациенты были случайным образом распределены в соотношении 3:2 для приема либо перорально иксазомиба в дозе 3 мг, либо соответствующего плацебо, в дни 1, 8 и 15-й 28-дневных циклов. Доза была увеличена до 4 мг с 5-го цикла при условии переносимости в течение 1-4 циклов. В общей сложности было зарегистрировано 706 пациентов с ВДММ: 425 в группе иксазомиба и 281 в группе плацебо. Исходные характеристики пациентов были хорошо сбалансированы между обеими группами. Рандомизация была стратифицирована по режиму индукции (терапия, содержащая или не содержащая ингибиторы протеасомы); стадии заболевания (I или II или III), возрасту при рандомизации (< 75 или ≥ 75 лет); ответу на начальную терапию при скрининге (полный ответ [ПО] или охЧО). Так же, как и в исследовании TOURMALINE-MM3, пациенты продолжали лечение в течение 24 мес. (при отсутствии задержек в лечении, что эквивалентно 26 циклам) или до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности.

Согласно полученным результатам, при медиане продолжительности последующего наблюдения равной 21,1 мес., медиана PFS с момента рандоми-

зации (в группах больных ММ, получавших поддерживающую терапию иксазомибом или плацебо) составила 17,4 мес. и 9,4 мес. (HR=0,659; 95% CI: 0,542–0,801; p <0,001) (рис. 4). Разница в PFS с начала индукционной терапии также была статистически значимой (26,3 и 20,3 мес. в группе препарата иксазомиб по сравнению с плацебо; p <0,001). Клинические преимущества наблюдались у пациентов с ISS-III (HR=0,695; 95% CI: 0,499–0,967; p=0,030) и пациентов в возрасте ≥ 75 лет (HR=0,738; 95% CI 0,537–1,014; p=0,060). Увеличение PFS у пациентов с охЧО или ПО после индукционной терапии было статистически значимым (p <0,001). Медиана PFS составила 25,6 мес. в группе больных на иксазомибе по сравнению с 12,9 месяца в группе больных на плацебо (HR=0,586). Более значимое увеличение PFS наблюдалось у пациентов, достигших ПО или охЧО при начальной терапии, в ходе поддерживающей терапии иксазомибом по сравнению с плацебо, в выделенных подгруппах с момента рандомизации на (HR=0,586; 95% CI: 0.449–0.765; p <0,001).

Медиана времени до прогрессирования составила 17,8 против 9,6 мес. при применении иксазомиба по сравнению с плацебо, а повышение ответа во время поддерживающей терапии выявлено у 14,6% и 8,2% пациентов соответственно. Медиана количества циклов, которые получили пациенты, составила 13 (диапазон 1-26) и 12 (диапазон 1-26) циклов, при этом 16,0% и 10,1% пациентов завершили все указанные протоколом циклы, а 19,5% и 15,3%

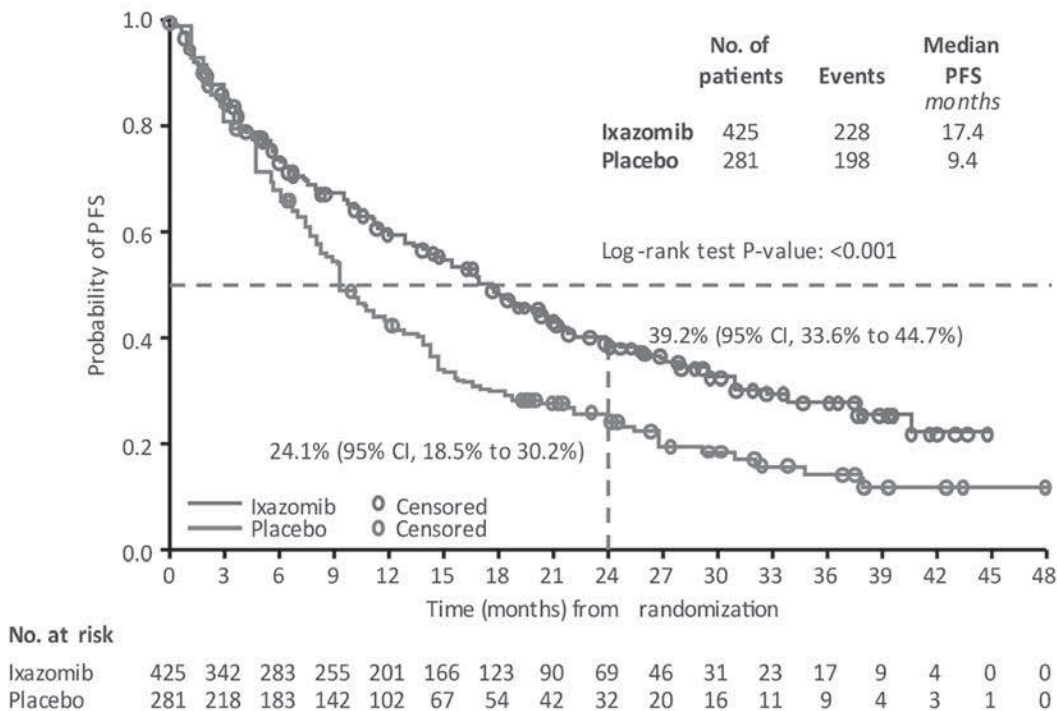


Рисунок 4. Беспрогрессивная выживаемость больных ММ, получавших поддерживающую терапию иксазомибом (верхняя кривая) или плацебо (нижняя кривая) [28].

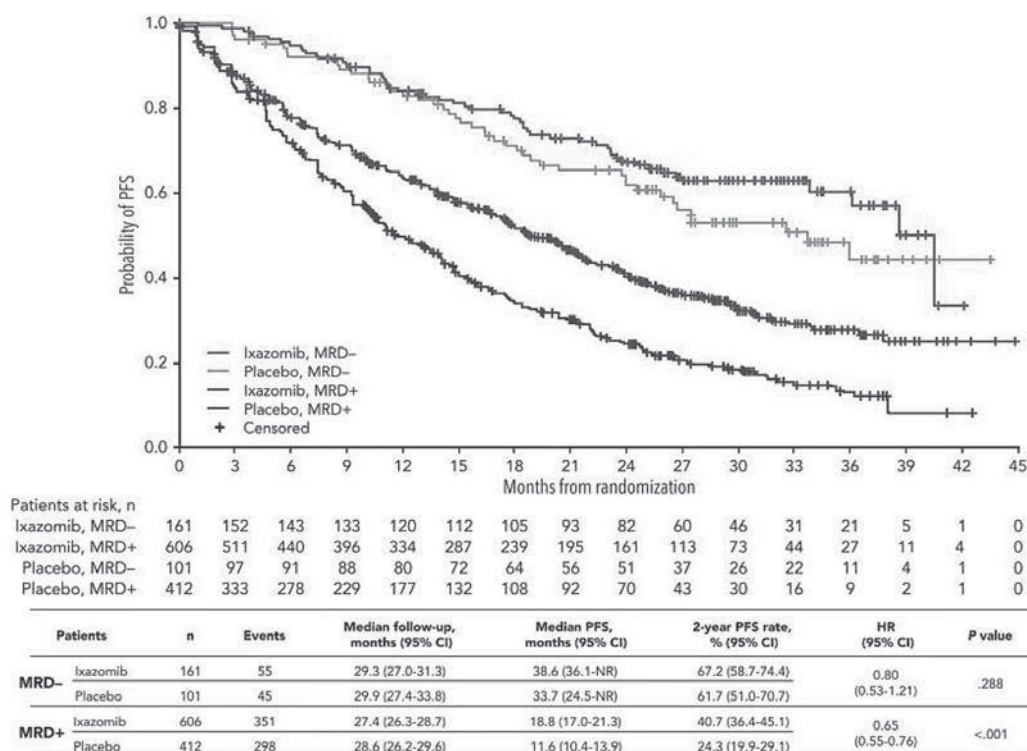


Рисунок 5. Беспрогрессивная выживаемость больных ММ при изменении МОБ-статуса по результатам исследований TOURMALINE-MM3 и -MM4 [29].

больных лечение продолжали. У 70,7% и 78,3% пациентов (иксазомиб по сравнению с плацебо) удалось повысить дозу с 3 мг до 4 мг [28].

В исследовании TOURMALINE-MM4 провели также анализ подгрупп пациентов, стратифицированных по возрасту (<65 лет, 65-74 года и ≥75 лет) и статусу «хрупкости»/астении (хорошая физическая форма, плохая физическая форма, ослабленное состояние). В подгруппах пациентов, разделенных в зависимости от статуса «хрупкости»/астении, более высокая частота ≥охЧО после индукционной терапии наблюдалась у пациентов в хорошей физической форме, у пациентов в плохой физической форме реже верифицирована ISS- III. У ослабленных пациентов чаще обнаруживалась III стадия по ISS и реже достигался ≥охЧО после индукционной терапии. Увеличение PFS на фоне поддерживающей терапии иксазомибом по сравнению с плацебо отмечалось во всех возрастных подгруппах и подгруппах с различным статусом «хрупкости»/астении.

В целом частота тяжелых НЯ между группами была сходной. При применении иксазомиба по сравнению с плацебо у 36,6% против 23,2% пациентов наблюдались нежелательные явления ≥ 3 степени, связанные с лечением; 12,9% против 8,0% прекратили лечение. Наиболее частые НЯ, которые на ≥5% чаще возникали в группе препарата иксазомиб, чем в группе плацебо, включали тошноту (26,8% и 8%), сыпь (25,6% и 10,5%), рвоту (24,2% и 4,3%), диарею (23,2% и 12,3%), периферическую нейро-

патию (19,5% и 10,9%) и повышение температуры тела (11,3% и 5,1%). Частота сердечной аритмии, сердечной недостаточности, гипотензии, нарушенной функции печени и почек были низкими и одинаковыми между группами. В обеих группах зарегистрировано лишь несколько случаев смерти (2,6% и 2,2%). Развитие herpes zoster наблюдалось у 3,1% с иксазомибом и 0,7% с плацебо; у пациентов, получающих противовирусную профилактику, показатели составляли 0,4% и 0% соответственно. у 5,2% и 6,2% пациентов в группах иксазомиба и плацебо были выявлены новые первичные злокачественные новообразования.

Таким образом, поддерживающая терапия иксазомибом после индукционной терапии у пациентов с ВДММ, не являющихся кандидатами на трансплантацию, привела к статистически значимому 8-месячному увеличению медианы PFS со снижением риска прогрессирования или смерти на 34,1% по сравнению с плацебо. Преимущества PFS наблюдались в предварительно определенных подгруппах пациентов, включая пациентов с ПО или охЧО для начальной терапии, пожилых пациентов и пациентов с ISS III стадии. Преимущества поддерживающей терапии иксазомибом были реализованы в контексте хорошо переносимого профиля безопасности и отсутствия неблагоприятного воздействия на качество жизни пациентов.

Raiva B. et al. изучили прогностическую ценность динамики МОБ статуса в объединенной когорте

## ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

пациентов из исследований III фазы TOURMALINE-MM3 и -MM4 [29]. У участников, достигших полного ответа, были взяты аспираты костного мозга для оценки МОБ при рандомизации, после цикла 13 и в конце лечения. Медиана выживаемости без прогрессирования (PFS) от рандомизации была достигнута, но была более длительной у пациентов с МОБ-отрицательным против МОБ-положительного

статуса (38,6 против 15,6 мес. соответственно). МОБ-отрицательный статус был связан с более длительной PFS по сравнению с МОБ-положительным статусом в большинстве подгрупп пациентов, независимо от демографии, особенностей заболевания при постановке диагноза (например, цитогенетический риск, предшествующее лечение, обычный ответ) или географического региона тестирования

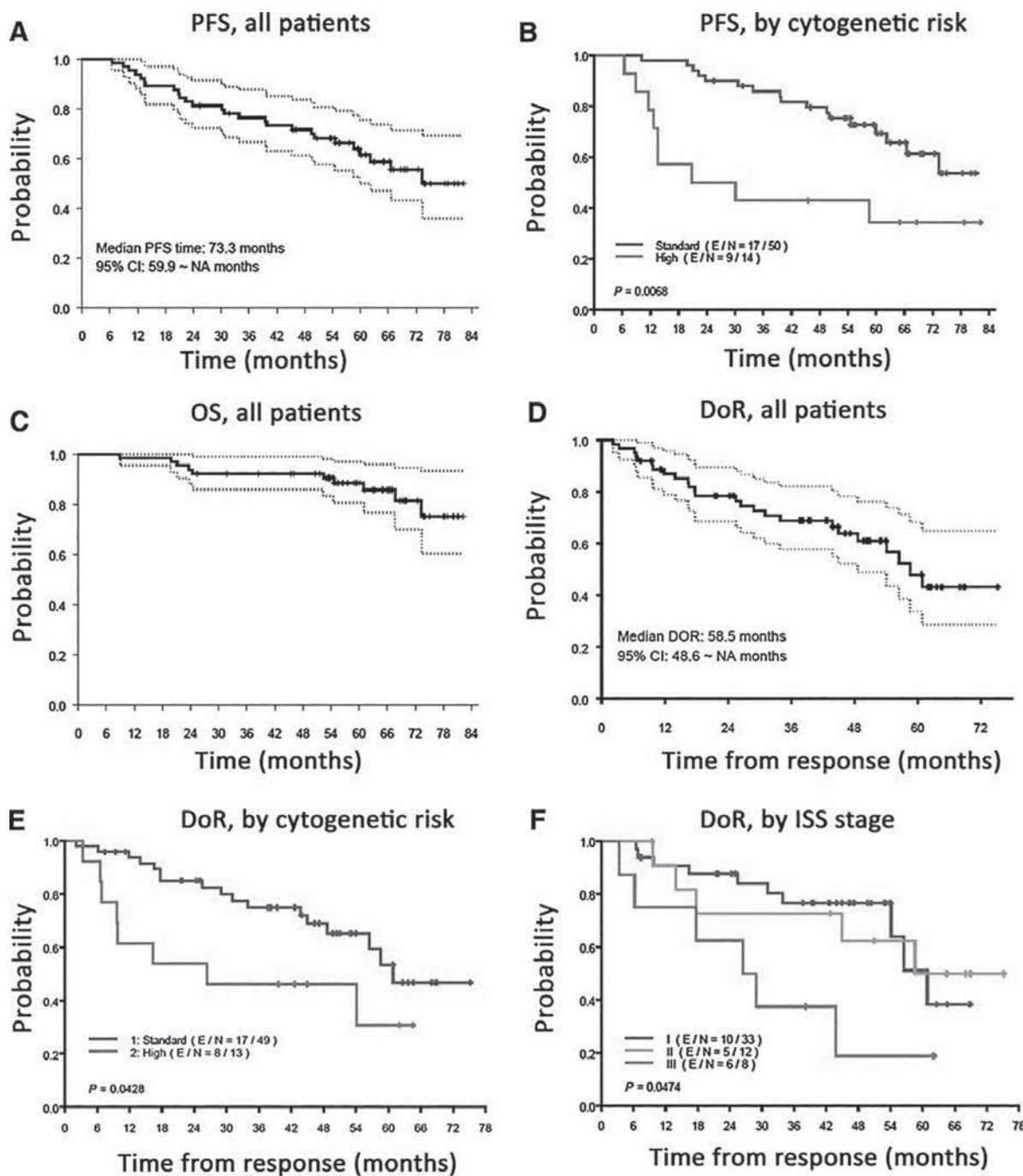


Рисунок 6. Эффективность поддерживающей терапии леналидомидом+иксазомибом. А – PFS у всех больных. В – PFS в группах цитогенетического риска. С – OS у всех больных. D – продолжительность ответа у всех больных. E – продолжительность ответа [(DoR, by cytogenetic risk) при стандартном (standard) и высоком (high) риске]. F – продолжительность ответа с учетом стадий по ISS. E/N, события/количество пациентов.

МОБ. Статус МОБ при скрининге был особенно значим у пациентов в возрасте <60 лет (HR=0,591), от 60 до <75 лет (HR=0,415) и ≥75 лет (HR=0,298), а также у пациентов с I (HR=0,614), II (HR=0,456) и III (HR=0,366) стадиями заболевания по классификации ISS. Более длительная PFS наблюдалась у пациентов с устойчивым МОБ [-] статусом по сравнению с пациентами, переходящими из МОБ [-] в МОБ [+] (2-летняя PFS – 75,0% против 34,2%). Поддерживающая терапия в течение 28 мес. иксазомибом по сравнению с плацебо улучшила PFS у пациентов с MRD [+] (медиана 18,8 против 11,6 месяцев; OR=0,65). Никакой разницы не наблюдалось у пациентов с МОБ [-] (рис. 5). Риск прогрессирования заболевания и/или смерти у пациентов, у которых не удалось достичь или сохранить отрицательный статус МОБ после скрининга, был выше в 8 раз (HR=8,20, 95% CI: 5,49–12,2, p <0,001).

Вызывает интерес исследование Patel K.K. et al., которые поставили цель – установить безопасность и эффективность леналидомида в сочетании с иксазомибом при назначении их в поддерживающей терапии после аутоТГСК [30]. В исследование включались пациенты с ВДММ, через 60-180 дней после инфузии стволовых клеток. Больным был назначен леналидомид (начальная дозы 10 мг/сутки перорально в течение 28 дней с возможностью увеличения дозы до 15 мг после трех циклов) и иксазомиб по 3 мг (48 пациентов) или 4 мг (16 пациентов) перорально 1, 8 и 15 дни каждого 28-дневного цикла. Зарегистрировано в общей сложности 64 пациента, из них 41 (64,06%) в возрасте 60 лет и старше. Четырнадцать пациентов имели цитогенетические аномалии высокого риска [амплификация 1q, del17p, t(14:16), t(4:14)], а 50 пациентов – стандартного риска [t(11:14), t(6:14), гипердиплоидия, нормальная], у 9 пациентов верифицирована 3 ст. по ISS. У всех больных исходно был зарегистрирован ПО (n=3), охЧО (n=39), ЧО (n=19), стабилизация (n=2) и 1 пациент был с неясным ответом. При проведении поддерживающей терапии у 31 (48,4%) пациента наблюдалось отчетливое улучшение всех показателей по сравнению с их исходным ответом: у 6 пациентов от ЧО до охЧО; у 7 – от ЧО до строгого ПО /ПО; у 16 от охЧО до строгого ПО/ПО; у 1 – от стабилизации до ПО; у 1 – от стабилизации до охЧО. Медиана времени до достижения более высоких показателей ответа на поддерживающую терапию двумя препаратами составила 10,9 мес. (диапазон 0,9–51,3 мес.) [30].

Что касается выживаемости, то установлено, что медиана PFS для всех пациентов составила 73,3 мес. [95% CI: 59,9 мес. – не достигнута] с 5-летней PFS 61,4% (95% CI: 49,9–75,5; рис. 6 А). Медиана PFS у пациентов со стандартным цитогенетическим риском не была достигнута, а 5-летняя PFS составила 69% (95% CI=57–85). У пациентов с высоким риском указанные показатели были ниже. Медиана PFS составила 25,41 мес. (95% CI=13,5 мес. – не достигнута),

а 5-летняя PFS – 34% (95% CI: 16–72; p=0,0068; рис. 6 В).

По состоянию на дату окончания этого исследования было зарегистрировано 10 случаев смерти пациентов. При медиане времени наблюдения 62,04 мес. (диапазон 25,43–83,13 мес.), медиана OS не была достигнута, а 5-летняя OS составила 88,4% (95% CI: 80,6–96,9; рис. 6 С). Медиана продолжительности ответа для всех пациентов составила 58,5 мес. (95% CI: 48,6 мес. – не достигнута), со статистически значимым увеличением продолжительности ответа у пациентов со стандартным цитогенетическим риском (60,84 мес.; 95% CI: 56,44 мес. – не достигнута) по сравнению с высоким риском (26,38 мес.; 95% CI=9,63 мес. – не достигнута; p <0,043; рис. 6 D и E). Также наблюдалась статистически значимая разница в медиане продолжительности ответа в зависимости от стадии ISS на момент постановки диагноза (рис. 6 F).

Из 64 пациентов, вошедших в это исследование, 45 были исключены из исследования по следующим причинам: прогрессирование заболевания, отзыв согласия, периферическая нейропатия, токсичность и второе злокачественное заболевание. Медиана количества циклов для пациентов, вышедших из исследования, составила 20.

Наиболее частыми гематологическими (любыми) нежелательными явлениями были нейтропения (89,1%), лейкопения (78,1%), тромбоцитопения (76,6%) и анемия (68,8%), в то время как наиболее частыми негематологическими явлениями были диарея (82,8%) усталость (78,1%), тошнота (75%), запоры (67,2%), инфекции верхних дыхательных путей (65,6%), рвота (64,1%) и гипергликемия (60,9%). Наиболее частыми гематологическими НЯ 3 ст. и выше были нейтропения (46,9%), лейкопения (20,3%), тромбоцитопения (15,6%) и анемия (3,1%), а негематологическими – легочная инфекция (26,6%), диарея (12,5%), макулопапулярная сыпь (12,5%), усталость (10,9%), периферическая сенсорная нейропатия (10,9%), инфекция верхних дыхательных путей (7,8%), тошнота (6,7%). Серьезные нежелательные явления включали легочные инфекции (12 пациентов), связанные с лечением вторичные злокачественные заболевания (9 пациентов), респираторные расстройства, включая дыхательную недостаточность (8 пациентов). Снижение дозы леналидомида произошло у 52% пациентов. Из 64 зарегистрированных пациентов, первые 16 пациентов начали прием иксазомиба в дозе 4 мг в дни 1, 8 и 15. Однако доза иксазомиба была снижена до 3 мг для всех последующих пациентов (n=48), что было связано с развитием цитопении. Снизить дозу иксазомиба до 2,4 мг пришлось у 20 пациентов в связи с нейропатией, нейтропенией, потерей слуха, тромбоцитопенией и сыпью.

Таким образом, результаты применения в поддерживающей терапии леналидомида в сочетании

к иксазомибом показали лучшую, чем ожидалось, медиану PFS (73,3 мес.) по сравнению с поддерживающей терапией только леналидомидом (медиана PFS 41-52,8 мес.) [10,31]. При этом 3-летняя OS составила 92,2%, что также больше, чем 3-летняя OS, наблюдаемая при использовании только леналидомида (80-88%). Кроме того, выявлена статистически значимая разница в ответе на поддерживающую терапию леналидомидом и иксазомибом у пациентов со стандартным и высоким риском.

В целом, никаких новых сигналов опасности при комбинированной поддерживающей терапии не наблюдалось. Дополнительным преимуществом этой комбинации является то, что оба препарата дают перорально, что обеспечивает более удобное лечение и предпочитается многими пациентами.

### Заключение

Подводя итог, представленным выше результатам, следует отметить, что основной целью поддерживающей терапии является улучшение прогноза пациентов с ММ путем углубления и поддержания ремиссии заболевания, достигнутой при первичном лечении. Интерферон и глюкокортикоиды, такие как преднизолон и дексаметазон, либо по отдельности, либо в комбинации, были первыми препаратами, протестированными и применявшимися для поддержания ММ в 1990-х годах. Попытки замедлить прогрессирование ММ с их помощью сопровождались развитием токсических эффектов без стойкой или значимой клинической пользы. Уже в первом десятилетии 21 века в поддерживающей терапии ММ стали использовать новые лекарственные средства – иммуномодулирующие препараты, включающие талидомид и леналидомид, и ингибиторы протеасом, такие как бортезомиб и иксазомиб. Иммуномодулирующие препараты и ингибиторы протеасом оказывают более отчетливые анти-ММ эффекты посредством различных биологических механизмов в сравнении с интерферонами и глюкокортикоидами. В результате их применения в качестве поддерживающей терапии была зарегистрирована задержка рецидива и более длительная выживаемость без прогрессирования.

В то же время, среди десятков отчетов рандомизированных контролируемых исследований лишь в нескольких были выявлены значительные преимущества общей выживаемости в результате проведения поддерживающей терапии ММ; другие указали на то, что поддерживающее лечение не оказало существенного влияния на общую выживаемость. С другой стороны, вопросы безопасности представляют собой основную проблему поддерживающей терапии ММ. Длительное применение средств против ММ может вызвать незначительные или тяжелые побочные лекарственные реакции из-за накопленной токсичности препарата, такие как нарушение кроветворения, тромбоз, иммунную дисфункцию, рецидивирующую инфекцию, побочные эффекты

со стороны желудочно-кишечного тракта, нарушения обмена веществ, периферическую нейропатию и другие. Эти нежелательные явления наносят вред здоровью и качеству жизни пациентов и могут привести к преждевременному прекращению лечения из-за непереносимости побочных эффектов. Более того, длительное лечение также может стать огромным экономическим бременем для пациентов и общества.

Поддерживающая терапия леналидомидом неизменно приводит к значимому увеличению беспрогрессивной выживаемости и является действующим стандартом лечения во многих странах. Большинство пациентов прогрессируют в течение 2-3 лет после аутоТГСК без поддерживающей терапии. Леналидомидная поддержка продемонстрировала улучшение PFS по сравнению с наблюдением пациентов, после индукции и аутоТГСК, и пациентов с цитогенетическими факторами высокого риска. На фоне поддерживающей терапии леналидомидом риск прогрессирования заболевания или смерти снижался более чем на 50% по сравнению с плацебо или наблюдением. Поддерживающая терапия после трансплантации является эффективным вмешательством, нередко способным увеличить и общую выживаемость. Поддерживающая терапия у пожилых пациентов также не вызывает сомнений. Пациенты с ВДММ, которые не являются кандидатами на трансплантацию, продемонстрировали улучшение PFS при поддерживающей терапии леналидомидом с наибольшей пользой, наблюдаемой в возрасте 65-75 лет. В некоторых исследованиях рассматривался вопрос о том, следует ли использовать поддерживающую терапию при множественной миеломе в течение фиксированного времени или до прогрессирования заболевания. Имеются данные о том, что сокращение продолжительности терапии леналидомидом приводит снижению PFS и OS. Обращает на себя внимание токсичность леналидомида, включающая лихорадку, нейтропению, тромбоцитопению, панцитопению и диарею, которые могут быть причиной снижения качества жизни и отмены поддерживающей терапии. Между тем, результаты клинического исследования IFM 2009 показывают, что индукция и аутоТГСК с последующим поддержанием до прогрессии обеспечивают улучшение качества жизни пациентов с ВДММ. Кроме того, смущает частота вторых первичных злокачественных новообразований, которая, по данным клинических исследований, была относительно увеличена в когортах больных, получавших леналидомид. Тем не менее, значительное клиническое преимущество поддерживающей терапии, улучшении PFS и, в некоторых исследованиях, общей выживаемости, позволили рекомендовать леналидомид в качестве предпочтительного режима поддерживающей терапии (категория 1 по версии NCCN 2022). Поддержание леналидомидом считается стандартным режимом



для пациентов с ММ после аутоТГСК и по версии ESMO 2021 [I, A]. Однако его назначение должно быть взвешенным с учетом повышенной частоты тяжелой (степени 3 и 4) нейтропении, риска злокачественных неоплазий и других видов токсичности.

Бортезомиб также рекомендуется в качестве поддерживающей терапии у пациентов с ММ. Применение бортезомиба в рамках режима индукции с последующей аутоТГСК и назначение его в качестве поддерживающей терапии продемонстрировало улучшенные показатели PFS и OS. Поддерживающая терапия бортезомибом после индукции бортезомиб-содержащими режимами у пациентов, не являющихся кандидатами на трансплантацию, также привела к хорошим результатам. Бортезомиб хорошо зарекомендовал себя при высоком цитогенетическом риске. Основываясь на результатах клинических исследований III фазы NOVON и UPFRONT, эксперты NCCN добавили бортезомиб в качестве варианта поддерживающей терапии для пациентов, являющихся кандидатами на трансплантацию, а также для пациентов, не имеющих показаний для трансплантации. По мнению экспертов ESMO 2021, бортезомиб может рассматриваться для пациентов с ММ высокого риска [II, B]. Однако, несмотря на перспективность поддерживающей терапии бортезомибом, такая терапия ограничена необходимостью парентерального введения препарата и риском развития периферической нейропатии. Поэтому использование бортезомиба требует тщательного мониторинга, а продолжительность терапии не должна превышать 2 лет.

Масштаб полезных эффектов применения иксазомиба, выявленных в клинических исследованиях, соответствует эффектам, ожидаемым от применения ингибиторов протеасом в качестве поддерживающей терапии. В исследовании TOURMALINE-MM3 были получены данные, указывающие на значимость поддерживающей терапии при множественной миеломе и подтверждающие эффективность монотерапии иксазомибом с фиксированной продолжительностью при этом заболевании. Хотя сравнения абсолютных значений медианы PFS между разными клиническими исследованиями следует избегать из-за вмешивающихся факторов, таких как различия между популяциями пациентов, продолжительность лечения и предшествующее лечение, можно оценить относительную пользу по сравнению с общепринятым препаратом сравнения. В исследовании TOURMALINE-MM3 увеличение PFS, наблюдаемое на фоне применения иксазомиба по сравнению с плацебо, составляло более 5 месяцев, в то время как при поддерживающей терапии леналидомидом по сравнению с плацебо или наблюдением было показано увеличение этого показателя более чем на 2 года. Несмотря на то, что польза поддерживающей терапии леналидомидом значительна, у пациентов с цитогенетическими аномалиями вы-

сокого риска она нестабильна и это обстоятельство является неудовлетворенной клинической потребностью.

Как указано выше, увеличение PFS в пост-трансплантационном периоде на фоне терапии иксазомибом было постоянным у пациентов с характеристиками заболевания, связанными с неблагоприятным прогнозом, в том числе с ММ III стадии по ISS и наличием цитогенетических факторов высокого риска, что является пользой применения ингибиторов протеасом в этих обстоятельствах. Поддерживающая терапия иксазомибом сопровождалась значимо более высокой частотой углубления ответа по сравнению с плацебо. Кроме того, доля пациентов, достигших отрицательного статуса МОБ, на фоне лечения иксазомибом была численно выше, чем в группе плацебо, хотя это повышение было незначительным. Важно отметить хорошую переносимость иксазомиба, низкую частоту досрочного прекращения применения препарата по причине нежелательных явлений, возникших во время лечения. Более того, не было выявлено увеличения частоты развития других первичных злокачественных новообразований после периода последующего наблюдения, медиана которого составляла 31 месяц. Основываясь на результатах исследования TOURMALINE-MM3, группа NCCN включила иксазомиб в качестве «другого рекомендуемого» варианта поддержания для пациентов, имеющих право на трансплантацию (категория 2B).

Поддерживающая терапия иксазомибом после индукционной терапии у пациентов с ВДММ, не являющихся кандидатами на трансплантацию, привела к 8-месячному увеличению медианы PFS со снижением риска прогрессирования или смерти более, чем на 30% по сравнению с плацебо. Преимущества PFS наблюдались в предварительно определенных подгруппах пациентов, включая пожилых пациентов и пациентов с ISS III стадии. Терапии иксазомибом характеризовалась удовлетворительным профилем безопасности и отсутствием неблагоприятного воздействия на качество жизни пациентов. Экспертная группа NCCN включила иксазомиб в качестве одного из рекомендуемых вариантов поддерживающей терапии для пациентов с ММ, не имеющих право на трансплантацию (категория 2B).

Сочетание ингибиторов протеасом и иммуномодулирующих агентов в рамках схемы индукции при лечении пациентов с миеломой существенно увеличило частоту и качество ответов. Возможно, режим поддерживающей терапии, состоящий из леналидомида и иксазомиба, принесет дополнительную клиническую пользу пациентам с ММ после аутоТГСК. Применение иксазомиба один раз в неделю в сочетании с леналидомидом и дексаметазоном для индукционной терапии, консолидации и поддерживающей терапии для сохранения ремиссии было изучено и характеризовалось благоприятными ре-

зультатами лечения. Как оказалось, поддерживающая терапия иксазомибом и леналидомидом имеет свои собственные профили риска и пользы, которые необходимо учитывать, и их следует рассматривать с учетом особенностей каждого отдельного пациента. Существенное преимущество, которое предлагает сочетание леналидомида и иксазомиба, заключается в том, что оба агента являются пероральными методами лечения, которые более удобны и предпочтительны многими пациентами. Эта комбинация, вероятно, обеспечит дополнительное преимущество в углублении ответа на аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с множественной миеломой.

В будущем стратегии поддерживающей терапии, будут, вероятно, отдавать предпочтение комбинированному подходу, например, у пациентов из группы высокого риска. Действительно, в целом существует необходимость в проведении дальнейших исследований для определения наиболее подходящих подходов к поддерживающей терапии для применения в различных подгруппах пациентов, определенных в соответствии с характеристиками, связанными с пациентом, заболеванием и предшествующим лечением. В настоящее время изучают и применяют в клинической практике несколько комбинированных режимов, включая поддерживающую терапию иксазомибом и леналидомидом у пациентов с впервые выявленной множественной миеломой, которые могут повлиять на будущую целесообразность поддерживающей терапии иксазомибом. Продолжаются исследования пользы применения комбинации леналидомида и иксазомиба в качестве поддерживающей терапии по сравнению с монотерапией иксазомибом или леналидомидом, отдельно оценивают применение этой комбинации у пациентов

с высоким риском, а также подход с чередованием этих препаратов.

В клинической практике при выборе стратегии поддержания следует учитывать и сбалансировать потенциальные выгоды, риски нежелательных явлений, затраты и предпочтения пациента. В отличие от консолидации, которая используется исключительно после трансплантации, поддерживающее лечение может применяться у пациентов, планируемых на трансплантацию, и у пациентов, не являющихся кандидатами на трансплантацию.

Поэтому важно взвесить пользу длительной поддерживающей терапии против стоимости терапии, риска токсичности и побочных эффектов. Гетерогенность заболевания может быть дополнительным фактором при принятии решений о лечении. Глубина ответа на поддерживающую терапию может зависеть от первоначального ответа на индукционную терапию. Дальнейшие исследования с более крупными когортами могут решить этот вопрос и определить, есть ли конкретные пациенты, у которых рекомендуется поддерживающая терапия леналидомидом в сочетании с иксазомибом.

Несколько комбинаций леналидомида с другими агентами оцениваются в качестве поддерживающей терапии у пациентов с множественной миеломой в условиях после аутоТГСКТ, включая моноклональные антитела, ингибиторы гистондеацетилазы и опухолевые вакцины. Поскольку эти комбинированные подходы дополнительно исследуются в конкретных подгруппах пациентов с множественной миеломой, вероятно, появится оптимальная терапия для пациентов на основе глубины их первоначального ответа, типа миеломы и цитогенетических факторов риска.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Альфа-2а-интерферон (Реаферон) в лечении больных множественной миеломой// Вопросы Онкол. – 1999. - №4. – С. 393 – 397.
2. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. Современный взгляд на проблему. – Алматы: Коста, 2007. – 480 с.
3. Myeloma Trialists' Collaborative Group. Interferon as therapy for multiple myeloma: an individual patient data overview of 24 randomized trials and 4012 patients// Br J Haematol. - 2001. – Vol. 113, N 4. – P. 1020-1034.
4. Morgan G.J., Gregory W.M., Davies F.E. et al. The role of maintenance thalidomide therapy in multiple myeloma: MRC Myeloma IX results and meta-analysis. // Blood. – 2012. – Vol. 119, N 1. – P. 7-15.
5. Lokhorst H. M., van der Holt B., Zweegman S. et al. A randomized phase 3 study on the effect of thalidomide combined with adriamycin, dexamethasone, and high-dose melphalan, followed by thalidomide maintenance in patients with multiple myeloma. // Blood. – 2010. – Vpl. 115. – P. 1113-1120.
6. Stewart A. K., Trudel S., Bahlis N.J. et al. A randomized phase 3 trial of thalidomide and prednisone as maintenance therapy after ASCT in patients with MM with a quality-of-life assessment: the National Cancer Institute of Canada Clinicals Trials Group Myeloma 10 Trial. // Blood. – 2013. – Vol. 121. – P. 1517-1523.
7. van de Donk N. W., van der Holt B., Minnema M. et al. Thalidomide before and after autologous stem cell transplantation in recently diagnosed multiple myeloma (HOVON-50): long-term results from the phase 3, randomized controlled trial. // Lancet Haematol. – 2018. – Vol. 5. – P. e479-e492.
8. Ludwig H., Durie B.G.M., McCarthy Ph. et al. IMWG consensus on maintenance therapy in multiple myeloma. // Blood. – 2012. – Vol. 119. – P. 3003-3015.
9. Dimopoulos M. A., Moreau P., Terpos E. et al. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up// Ann. Oncology. – 2021. – Vol. 32, N3. – P. 309-322.

10. McCarthy P.L., Holstein S.A., Petrucci M.T. et al. Lenalidomide maintenance after autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a meta-analysis. *J Clin Oncol.* // 2017. – Vol. 35. – P. 3279-3289.
11. Jackson G.H., Davies F.E., Pawlyn C. et al. Lenalidomide maintenance versus observation for patients with newly diagnosed multiple myeloma (Myeloma XI): a multicentre, open-label, randomized, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* // 2019. – Vol. 20. – P. 57-73.
12. McCarthy P.L., Owzar K., Hofmeister C.C. et al. Lenalidomide after stem-cell transplantation for multiple myeloma. // *N Engl J Med.* – 2012. – Vol. 366. – P. 1770-1781.
13. Holstein S.A., Jung S.H., Richardson P.G. et al. Updated analysis of CALGB (Alliance) 100104 assessing lenalidomide versus placebo maintenance after single autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma: a randomised, double-blind, phase 3 trial. // *Lancet Haematol.* – P. 2017. – Vol. 4. – P. e431-e442.
14. Attal M., Lauwers-Cances V., Marit G. et al. Lenalidomide maintenance after stem-cell transplantation for multiple myeloma. // *N Engl J Med.* – 2012. – Vol. 366. – P. 1782-1791.
15. Palumbo A., Hajek R., Delforge M. et al. Continuous lenalidomide treatment for newly diagnosed multiple myeloma. // *N Engl J Med.* – 2012. – Vol. 366. – P. 1759-1769.
16. Kumar S.K., LaPlant B.R., Gertz M.A. et al. Lenalidomide Maintenance Therapy In Multiple Myeloma: A Meta-Analysis Of Randomized Trials. // 2013. – Vol. 122. – P. 407-417.
17. Goldschmidt H., Lokhorst H.M., Mai E.K. et al. Bortezomib before and after high-dose therapy in myeloma: long-term results from the phase III HOVON-65/GMMG-HD4 trial. // *Leukemia.* – 2018. – Vol. 32. – P. 383-390.
18. Бессмельцев С.С., Стельмашенко Л.В., Карягина Е.В. и др. Бортезомиб (Велкейд) в индукционной терапии множественной миеломы // *Клиническая Онкогематология.* // 2008. – Т. 1, №4. – С. 315-322.
19. Jagannath S., Brian D., Wolf J. L. et al. A Phase 2 Study of Bortezomib as First-Line Therapy in Patients with Multiple Myeloma // *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts).* 2004. Vol. 104. Abstr. 333.
20. Jagannath S., Richardson P. G., Sonneveld P. et al. Bortezomib appears to overcome the poor prognosis conferred by chromosome 13 deletion in phase 2 and 3 trials // *Leukemia.* – 2007. – Vol. 21, N 1. – P. 151-157.
21. Niesvizky R., Flinn I.W., Rifkin R. et al. Community-Based Phase IIIB Trial of Three UPFRONT Bortezomib-Based Myeloma Regimens. // *J Clin Oncol.* – 2015. – Vol. 33. – P. 3921-3929.
22. Nooka, A. K. et al. Consolidation and maintenance therapy with lenalidomide, bortezomib and dexamethasone (RVD) in high-risk myeloma patients. // *Leukemia.* – 2014. – Vol. 28. – P. 690-693.
23. Chakraborty R., Muchtar E., Kumar S.K. et al. Outcomes of maintenance therapy with lenalidomide or bortezomib in multiple myeloma in the setting of early autologous stem cell transplantation. // *Leukemia.* – 2018. – Vol. 32. – P. 712-718.
24. Бессмельцев С.С. Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у больных с впервые диагностированной множественной миеломой. // *Вестник гематологии.* – 2023. – Т. XIX, №1. – С. 4-22.
25. Multiple Myeloma. NCCN Guidelines for Patients. Version 4.2022 [www.nccn.org/patients](http://www.nccn.org/patients).
26. Dimopoulos M.A., Gay F., Schjesvold F. et al. Oral ixazomib maintenance following autologous stem cell transplantation (TOURMALINE-MM3): a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial // *Lancet.* – 2019. – Vol. 393. – P. 253-264.
27. Schjesvold F., Goldschmidt H., Maisnar V. et al. Quality of life is maintained with ixazomib maintenance in post-transplant newly diagnosed multiple myeloma: The TOURMALINE-MM3 trial // *Eur J Haematol.* // 2020. – Vol. 104. – P. 443-458.
28. Dimopoulos M.A., Spicka I., Quach H. et al. Ixazomib as Postinduction Maintenance for Patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma Not Undergoing Autologous Stem Cell Transplantation: The Phase III TOURMALINE-MM4 Trial // *Journal of Clinical Oncology.* – 2020. – Vol. 38. – P. 4030-4041.
29. Paiva B., Manrique I., Dimopoulos M.A. et al. MRD dynamics during maintenance for improved prognostication of 1280 patients with myeloma in the TOURMALINE-MM3 and -MM4 trials // *Blood.* – 2023. – Vol. 141, N 6. – P. 579-591.
30. Patel K.K., Shah J.J., Feng L. et al. Safety and Efficacy of Combination Maintenance Therapy with Ixazomib and Lenalidomide in Patients with Posttransplant Myeloma // *Clin Cancer Res.* – 2022. – Vol. 28. – P. 1277-1284.
31. Jagannath S., Abonour R., Durie B.G.M. et al. Impact of post-ASCT maintenance therapy on outcomes in patients with newly diagnosed multiple myeloma in Connect MM. // *Blood Adv.* – 2018. – Vol. 2. – P. 1608-1615.

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

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

## **АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕНОТИПА ПАЦИЕНТАМ С ХИМЕРИЗМОМ ПО АНТИГЕНАМ ЭРИТРОЦИТОВ СИСТЕМЫ РЕЗУС**

### **Резюме**

В терапии гематологических заболеваний широко используются трансфузии компонентов крови, как единичные, так и многократные. Трансфузии донорских эритроцитов не всегда проводятся «фенотип в фенотип», что впоследствии приводит к выявлению двойных популяций (химер) эритроцитарных антигенов в крови реципиента при определении фенотипа методом агглютинации в геле. Недостоверные результаты определения антигенного состава эритроцитов реципиента могут быть причиной ошибок при подборе донорских эритроцитов, что может привести к аллоиммунизации. При следующих трансфузиях растет риск посттрансфузионных осложнений гемолитического типа. Решением проблемы может быть применение молекулярно-генетического типирования для точного определения антигенного состава эритроцитов реципиента.

Цель исследования – использовать молекулярно-генетическое типирование для определения антигенов эритроцитов пациентам с трансфузионным химеризмом для предотвращения ошибок при подборе донорских эритроцитов. Проанализировать встречаемость двойных популяций (химер) после трансфузионной терапии донорскими эритроцита-

ми, подобранными с учетом генотипа реципиента.

За 2019-2022 гг. методом агглютинации в геле из 1737 первично госпитализированных лиц с гематологическими заболеваниями у 129 (7,4%) пациентов были выявлены двойные популяции (химеры) по антигенам эритроцитов С, с, Е, е. Эти пациенты были генотипированы, несоответствие результатов молекулярно-генетического метода и метода агглютинации в геле составило 66 случаев (51,2%). Трансфузии эритроцитов пациентам исследуемой группы проводились с учетом генотипа. При последующих госпитализациях в 2020 – 2021 – 2022 г.г. количество пациентов с химеризмом в группе обследуемых снижалось соответственно 77,8 – 50,0 – 36,0 %. Аллоантитела не были обнаружены ни у одного из 129 пациентов. Молекулярно-генетическое типирование позволило получить достоверный результат. Отсутствие двойных популяций и аллоантител при повторных госпитализациях пациентов доказывает эффективность применения молекулярно-генетических методов при подборе донорских эритроцитов для трансфузий.

**Ключевые слова:** антигены эритроцитов, фенотип, трансфузии, химеризм

*Gavrovskaya S.V., Sysoeva E.A., Mineeva N.V., Bessmeltsev S.S.*

*FSBI "Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of FMBA of Russia*

## **ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF THE USE OF MOLECULAR GENETIC TYPING TO DETERMINE THE PHENOTYPE OF PATIENTS WITH CHIMERISM BY RHESUS ERYTHROCYTE ANTIGENS.**

### **Abstract**

Transfusions of blood components, both single and multiple, are widely used in the treatment of hematological diseases. Transfusions of donor erythrocytes are not always carried out "phenotype to phenotype". It leads to the identification of double populations (chimeras) of erythrocyte antigens in the recipient's blood when determining the phenotype by agglutination in gel. Unreliable results may cause errors in the selection of donor erythrocytes and lead to alloimmunization. With the following transfusions, the risk of posttransfusion complications of the hemolytic type increases. The solution to the problem may be the use of molecular genetic typing. The aim of the study was use molecular genetic typing to determine patient

phenotype to prevent errors in the selection of donor erythrocytes and to analyze the occurrence of chimeras after transfusion therapy into account the recipient genotype. In 2019-2022 chimeras of the antigens C, c, E, e were detected in 129 (7.4%) patients out of 1737 primary hospitalized persons with hematological diseases by the method of agglutination in gel. These patients were genotyped, the discrepancy between the results of the molecular genetic method and the method of agglutination in gel was 66 cases (51.2%). Transfusions of erythrocytes to patients of the study group were performed into account the genotype. With subsequent hospitalizations in 2020 – 2021 – 2022 the number of patients with chimerism decreased accordingly 77,8 – 50,0 – 36,0 %. Alloantibodies were

not found in any of the 129 patients. Molecular genetic typing allowed us to obtain a reliable result. The absence of double populations and alloantibodies proves the effectiveness of the use of molecular genetic methods in

**Введение.** Несмотря на безусловные успехи, достигнутые в последние годы в лечении и диагностике гематологических заболеваний и позволившие значительно повысить результаты помощи гематологическим больным, трансфузионная терапия по-прежнему остается важной составляющей комплексного лечения. Широкое использование стимуляторов гемопоэза позволило сократить трансфузионную зависимость у ряда пациентов, однако при проведении высокодозной химиотерапии и трансплантации стволовых клеток сохраняется высокая потребность в заместительной терапии компонентами крови [1]. Главной опасностью, возникающей на фоне трансфузий, являются посттрансфузионные осложнения (ПТО). Все принятые меры профилактики ПТО, безусловно, снижают уровень аллоиммунизации, однако могут быть неэффективны из-за неправильной интерпретации результатов иммуногематологических исследований [2]. Трансфузии донорских эритроцитов, несущих антигены, отсутствующие у реципиента, могут привести к выработке клинически значимых аллоантител, что приводит к ПТО гемолитического типа [3]. Для пациентов с гематологическими диагнозами крайне важно, чтобы трансфузии донорских эритроцитов проводились «фенотип в фенотип» во избежание аллоиммунизации. Однако встречаются индивидуумы с редкими фенотипами, которым непросто быстро найти донора, им проводят трансфузии донорских эритроцитов с совместимым, но не идентичным фенотипом. Таким образом, в кровеносном русле реципиента в течение 3 месяцев наряду с его собственными эритроцитами циркулируют донорские эритроциты (трансфузионный химеризм), и определить фенотип серологическими методами невозможно. Известно, что у пациентов с гематологическими диагнозами часто встречается снижение экспрессии антигенов эритроцитов, что также может являться причиной химеризма [4,5,6]. Недостоверные результаты определения фенотипа реципиента недопустимы при подборе донорских эритроцитов, правильность интерпретации результатов предтрансфузионных тестов является ключевым фактором профилактики ПТО. Существующие в настоящее время серологические методы не всегда способны эффективно решать поставленные задачи [5], поэтому в лабораторной практике гематологической клиники необходимо использование молекулярно-генетических методов типирования для точного определения антигенного состава эритроцитов реципиента [1]. Метод молекулярно-генетического типирования также может быть применим при подборе гемокомпонентов для трансфузий

the selection of donor erythrocytes for transfusions.

**Key words:** erythrocyte antigens, phenotype, transfusion, chimerism

пациентам, имеющим антитела к антигенам эритроцитов редкой специфичности, а также после трансплантации костного мозга для оценки приживаемости трансплантата.

**Материалы и методы.** Было выполнено серологическое типирование 1737 первично госпитализированных пациентов с различными гематологическими заболеваниями, проходивших лечение в ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства». Типирование проводили методом агглютинации в геле в ID-картах DiaClon Rh-Subgroups+K в соответствии с инструкциями производителя (BIO-RAD, Швейцария). Характер агглютинации оценивали в интервале от 1+ до 4+. У 129 лиц были выявлены двойные популяции (химеры) по одному или нескольким антигенам эритроцитов системы Резус С, с, Е, е, что явилось критерием отбора образцов для молекулярно-генетического типирования.

Генетические исследования проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием молекулярной системы детекции на анализаторе FluoVista (Inno-Train, Германия) с помощью аллель-специфических праймеров – SSP ПЦР (SSP: «Sequence Specific Priming»). Аллели генов RHD и RHCE, опосредующие антигенные свойства эритроцитов, определяли с использованием набора реактивов RBC-FluoGene vERYfy (Inno-Train, Германия). Набор позволяет определять 1, 5, 10 экзоны и psi (инсерция внутри 4-ого экзона) гена RHD, а также аллельные варианты гена RHCE.

Выделение геномной ДНК осуществляли с помощью комплекта реагентов для выделения ДНК из клинического материала «ДНК-сорб-В» (AmpliSens, Россия) из цельной крови, взятой в пробирку с 5% K2ЭДТА. Для ПЦР использовали раствор ДНК в концентрации 1 нг/мкл.

Для достоверности различий встречаемости применяли непараметрический статистический метод для малых групп с использованием двухстороннего точного критерия Фишера. Различия рассматривали как статистически значимые при  $p < 0,05$ .

Все обследованные пациенты подписали информированное согласие. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России (протокол № 48 от 20.10.2022 г.).

**Результаты и обсуждение.** В течение 2019 – 2022 гг. проводился мониторинг выявления двойных популяций (химеризма) при исследовании антигенов эритроцитов серологическими методами у пациентов с разными гематологическими заболеваниями.

## ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Из 1737 первично госпитализированных лиц у 129 (7,4%) методом агглютинации в геле были выявлены двойные популяции (химеры) по одному или нескольким антигенам эритроцитов системы Резус

(С, с, Е, е). В таблице 1 показан % встречаемости химеризма среди пациентов с разными гематологическими заболеваниями, нуждающихся в трансфузиях гемокомпонентов.

Таблица 1

### Встречаемость химеризма в исследуемой группе по нозологии.

Диагноз	Пациенты с химерами	%
Миелодиспластический синдром	36	29,7
Острый лейкоз	32	24,8
Хронический миелолейкоз	18	14,0
Первичный миелофиброз	11	8,5
Хронический лимфоцитарный лейкоз	10	7,8
Множественная миелома	9	7,0
Апластическая анемия	7	5,4
Эссенциальная тромбоцитемия	3	2,3
Макроглобулинемия Вальденстрема	1	0,8
Неходжинская лимфома	1	0,8
Истинная полицитемия	1	0,8

Чаще всего двойные популяции антигенов выявлялись у пациентов с миелодиспластическим синдромом (29,7%), острым лейкозом (24,8%) и хроническим миелолейкозом (14,0%). Реже двойные популяции антигенов обнаруживались у пациентов с первичным миелофиброзом, хроническим лимфоцитарным лейкозом, апластической анемией и множественной миеломой. Среди пациентов с другими

нарушениями кроветворной системы «химеризм» наблюдался в 0,8 – 2,3% случаев.

При генотипировании пациентов с выявленным химеризмом было получено несоответствие результатов молекулярно-генетического метода и метода агглютинации в геле. Результаты отображены в таблице 2.

Таблица 2

### Расхождение результатов серологического и молекулярно-генетического типирования у пациентов исследуемой группы

Антигены, по которым выявлено расхождение	Количество случаев, n	Несоответствие фенотип/генотип (n)
С	14	CxcDEe / ccDEe (10)
		CxcDee / ccDee (3)
		Cxcddee / ccddee (1)
Е	22	CcDExe / CcDee (21)
		ccDExe / ccDee (1)
с	15	CcxDee / CCDee (14)
		Ccxdde / CCdde (1)
е	4	ccDEex / ccDEE (4)
сЕ	5	CcxDExe / CCDee (5)
СЕ	3	CxcDExe / ccDee (3)
Се	3	CxcDEex / ccDEE (3)

Примечание: нижний индекс «х» справа от буквенного обозначения антигена означает наличие двойной популяции при исследовании методом агглютинации в геле.

По одному антигену системы Rh расхождения наблюдались у 55 пациентов, по двум антигенам у 11. Всего 66 случаев из 129 (51,2%). Чаще встречались

расхождения результатов определения антигенов С и Е, иммуногенность которых достаточно высока. Аллоантитела к антигену Е встречаются в 7%,

анти-С антитела в 3% несовместимых трансфузий [7]. Причиной значительного количества недостоверных результатов определения фенотипа серологическим методом было наличие в крови пациентов популяций донорских эритроцитов от предыдущих трансфузий, неидентичных по антигенам системы Rh. Полученные нами данные согласуются с результатами других исследований, в которых расхождения между результатами генотипирования и фенотипирования у пациентов, имеющих в анамнезе трансфузии компонентов крови, колебались от 10% до 90% [8–10].

Все последующие гемотрансфузии пациенты исследуемой группы получали с учетом генотипа. Гемолитических реакций и осложнений зафиксировано не было. При повторных госпитализациях пациентам проводили фенотипирование методом агглютинации в геле, а также исследование плазмы крови на наличие антиэритроцитарных аллоантител. Аллоантитела не были обнаружены ни у одного из этих больных. Мониторинг госпитализаций пациентов исследуемой группы за 2020 – 2022 годы показал, что повторяемость химеризма последовательно снижалась (Таблица 3).

**Таблица 3**

**Количество повторно госпитализированных генотипированных пациентов с двойными популяциями эритроцитов**

Год	Повторно госпитализировано	С двойными популяциями эритроцитов
2020	27	21 (77,8%)
2021	20	10 (50%)
2022	14	5 (36%)

По сравнению с 2020 г. в 2021 г. наметилась тенденция снижения количества таких пациентов ( $p=0,065$ ), а в 2022 г. химеры встречались достоверно реже ( $p=0,015$ ).

Двойные популяции эритроцитов встречаются не только у пациентов с множественными трансфузиями в анамнезе. После трансплантации костного мозга у пациентов наблюдается период смешанного гемопозитического химеризма [11]. Молекулярно-генетический анализ позволяет оценить успешность приживления трансплантата, риск возможного его отторжения, рецидива и т.д. В случае присутствия алло- или аутоантител в крови пациента анализ методом агглютинации в геле также может быть затруднен [2,5,7,12]. При целом ряде заболеваний (лейкозы, пернициозная анемия, общая инфекция, цирроз печени, пневмония, нефрозо-нефрит, болезнь Рейно и др.) может наблюдаться и явление неспецифической агглютинации: сыворотка дает агглютинацию со всеми эритроцитами и даже с собственными, а эритроциты вызывают агглютинацию со всеми сыворотками и даже с сывороткой четвертой группы [7]. В таких случаях молекулярно-генетическое типирование можно рассматривать как альтернативный метод определения антигенного состава эритроцитов.

**Выводы**

1. Молекулярно-генетическое типирование антигенного состава эритроцитов реципиентов с трансфузионным химеризмом позволило получить до-

стоверный результат.

2. Снижение количества пациентов с двойными популяциями и отсутствие аллоантител при повторных госпитализациях пациентов доказывает эффективность применения молекулярно-генетических методов при подборе донорских эритроцитов для трансфузий.

3. Проведение генотипирования может быть рекомендовано пациентам с множественными трансфузиями в анамнезе; имеющим антитела к антигенам эритроцитов; после трансплантации костного мозга и в других сложных случаях.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Информация о финансировании**

Финансирования данной работы не проводилось.  
 Вклад авторов  
 Концепция и дизайн: все авторы  
 Сбор и обработка данных: все авторы  
 Представление материалов исследования: все авторы  
 Анализ и интерпретация: все авторы  
 Подготовка рукописи: все авторы  
 Окончательное одобрение рукописи: Минеева Н.В., Бессмельцев С.С.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Bakanay S.M., Ozturk A., Ileri T. et al. Blood group genotyping in multi-transfused patients // *Transfusion and Apheresis Science*. – 2013. – Vol. 48, – P. 257–261.
2. Пашкова И.А. Алгоритм разрешения проблем предтрансфузионного иммуногематологического тестирования // *Гематология и трансфузиология*. – 2019. –Т. 64, № 2. – С. 222–233.
3. Пашкова И.А., Можейко М.П., Арсенова Е.Ю., Минеева Н.В. Отсроченные гемолитические трансфузионные осложнения // *Гематология и трансфузиология*. — 2009. – № 2. – С. 44–46
4. Winters J.L., Howard D.S. Red blood cell antigen changes in malignancy: Case report and review. // *Immunohematology*. – 2001. – Vol. 17, № 1. – P. 1-9
5. Garratty G. Blood groups and disease: A historical perspective. // *Transfus Med Rev*. –2000. – Vol. 14, № 4. – P. 291-301
6. Кробинец И.И., Минеева Н.В., Сысоева Е.А., Чечеткин А.В. Особенности интерпретации результатов исследований антигенов и антител АВО и Резус у пациентов с гематологическими заболеваниями // *Сибирский научный медицинский журнал*. – 2020. – Т. 40, № 5. – С. 66–72.
7. Минеева Н. В., И. А. Пашкова, И. И. Кробинец, Е. А. Сысоева. Аллосенсибилизация к антигенам эритроцитов (обзор литературы) // *Иммуногематология*. – 2015. –Т. 10, № 4. – С. 60-65.
8. Каландаров Р.С., Головкина Л.Л., Васильева М.Н., Стремоухова А.Г., Пушкина Т.Д., Атрощенко Г.В., Паровичникова Е.Н. Генотипирование групп крови систем АВО и резус у пациентов после множественных гемотрансфузий // *Онкогематология*. – 2017. – Т. 12, № 2. – С. 70-79.
9. Belsito A., Costa D., Fioritoet C., De Iorio G., Casamassimi A., Perrotta S., Napoli C. Erythrocyte genotyping for transfusion-dependent patients at the Azienda Universitaria Policlinico of Naples // *Transfusion and Apheresis Sci*. – 2015. – Vol. 52, – P. 72-77.
10. Castilho L., Rios M., Bianco C., Pellegrino J.Jr., Alberto F.L., Saad S.T.O., Costa F.F. DNA-based typing of blood groups for the management of multiply-transfused sickle cell disease patients // *Transfusion*. – 2002. – Vol. 42, P. 232-238.
11. Дубняк Д.С., Рисинская Н.В., Дроков М.Ю., Судариков А.Б. Мониторинг химеризма после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток // *Трансплантология*. – 2022. – Т. 14, № 4. – С. 488-498.
12. Каландаров Р.С., Головкина Л.Л. Группы крови и онкологические заболевания // *Гематология и трансфузиология*. – 2021. – Т. 66, № 3. –С. 417-423.



Гришина Г.В., Касьянов А.Д., Ласточкина Д.В., Кробинец И.И.

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России», Санкт-Петербург

## ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА ДОНАЦИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕРРИТИНА В ОРГАНИЗМЕ ДОНОРОВ

### Резюме

В статье представлены результаты изменений метаболизма железа у доноров крови и ее компонентов в зависимости от вида и частоты донаций. Определены группы доноров с низким уровнем ферритина. Подтверждена связь между снижением сывороточного ферритина и увеличением частоты донаций. Истощение запасов железа выявлено в группе доноров – мужчин с 10 и более донациями

крови и доноров – женщин смешанных донаций возрастной группы от 25 до 45 лет. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности определения сывороточного ферритина у первичных и регулярных доноров крови и ее компонентов.

**Ключевые слова:** железодефицит, донация, интервал между донациями, ферритин, транспортное железо.

*Grishina G.V., Kasyanov A.D., Lastochkina D.V., Krobinec I.I.*

*FSBI "Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia", St. Petersburg*

## INFLUENCE OF THE NUMBER OF DONATIONS ON THE CONTENT OF FERRITIN IN THE BODY OF DONOR

### Abstract

The article presents the results of changes in the metabolism of iron in blood donors and its components, depending on the type and frequency of donations. Groups of donors with low ferritin levels were identified. An association between a decrease in serum ferritin and an increase in the frequency of donations has been confirmed. Factors for depletion of iron stores were

identified in the group of donors - men with 10 or more blood donations and donors - women of mixed donations in the age group from 25 to 45 years. The data obtained indicate the advisability of determining serum ferritin in primary and regular donors of blood and its components.

**Keywords:** iron deficiency, donation, interval between donations, ferritin, transport iron.

**Введение.** Проблема железодефицита в донорстве крови привлекает к себе все большее внимание специалистов службы крови. Нарастающий дефицит железа рано или поздно приводит к развитию анемии, которая является одной из основных причин временного отвода донора и серьезной угрозой для донорского потенциала. В Российской Федерации около 70% донорской крови заготавливается от регулярных доноров. Стандартная доза при донации крови составляет  $450 \pm 50$  мл, что составляет примерно 10% объема циркулирующей крови [1]. Каждая донация сопровождается потерей 200–250 мг железа. По данным М.Ю. Попович (2020), из поступающего в организм с пищей железа в количестве 15–20 мг в сутки всасывается в кишечнике не более 2–3 мг [2]. Интервал между донациями крови составляет 60 дней [1], однако для восполнения возникающего дефицита железа он может быть увеличен. В результате снижения запасов железа развивается латентный дефицит железа (ЛДЖ), ферритин снижен до 12–20 нг/мл, что в конечном итоге приводит к возникновению железодефицитной анемии. Увеличение частоты донаций способствует истощению

запасов железа, хотя уровень гемоглобина остается в интервале, допускающем донора до донации [3,4]. Проблема скрытого дефицита железа касается не только доноров крови, но и доноров плазмы и тромбоцитов. По данным литературы [6–8], при каждой процедуре афереза тромбоцитов донор теряет примерно 100 мл крови, что эквивалентно потере 20–25 мг железа. Учитывая, что нормативные документы различных стран, в том числе Российской Федерации, допускают донации тромбоцитов каждые две недели, при длительном донорском стаже афереза тромбоцитов высока вероятность развития дефицита железа.

Для сохранения донорского потенциала и проведения профилактических мероприятий по предотвращению развития ЛДЖ у доноров крови и ее компонентов необходимо исследование лабораторных показателей метаболизма железа. Содержание сывороточного ферритина (СФ) в периферической крови является информативным лабораторным тестом, позволяющим выявить дефицит железа [5].

Цель исследования: изучить динамику изменения показателей обмена железа у доноров крови и

ее компонентов в зависимости от вида и частоты донаций пола и возраста.

Материалы и методы исследования. Проведено исследование показателей обмена железа у 176 доноров ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, в том числе у 107 мужчин и 69 женщин, прошедших медицинское освидетельствование и не имеющих противопоказаний к донорству крови и ее компонентов. Возраст обследованных варьировал от 18 до 62 лет (медиана 35 лет). Обследованных доноров разделяли на пять групп в зависимости от вида и частоты донаций, пола и возраста. Первую группу составляли первичные доноры (28 человек), во вторую вошли доноры с количеством донаций 1-2 в течение года (23 человека). Третью представляли доноры крови, имеющие на момент исследования от 3 до 10 донаций (31 человек) и четвертая включала – более 10 донаций (47 человек). Сравнительный анализ влияния количества донаций крови на изменение показателей обмена железа проводили между указанными группами. Отдельно выделяли пятую группу, сформированную из доноров компонентов крови в возрасте от 25 до 45 лет, которую составили 46 доноров. Группа включала доноров смешанных донаций (9 мужчин и 5 женщин) и доноров, преимущественно участвовавших в процедуре тромбоцитафереза (23 мужчины и 9 женщин). Донорский стаж у них составлял в среднем 6 лет (от 2 до 13 лет), медиана общего количества донаций – 8 процедур в год. Группу сравнения (контрольную группу) составили доноры, не сдававшие кровь и ее компоненты в течение года перед обследованием (10 человек).

Изучены показатели запаса и транспортного железа. Для оценки запасов железа в организме доноров определяли уровень сывороточного ферритина (СФ) иммунотурбидиметрическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (Roche Diagnostics, Швейцария). Нижний порог нормы ферритина имеет различия по гендерному признаку и составляет  $\leq 20$  мкг/л у женщин,  $\leq 30$  мкг/л у мужчин [3]. Анализ транспортного

железа проводили, включая показатели сывороточного железа (СЖ), трансферрина (ТФ), растворимых рецепторов трансферрина (рТФР), общей и ненасыщенной железосвязывающей способности сыворотки крови (ОЖСС и НЖСС).

Статистический анализ выполнен в программе Microsoft Excel 2016. Рассчитывали медиану, нижний и верхний квартили. Для определения значимости применяли t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия, когда вероятность ошибки составляла не более 0,05 ( $p < 0,05$ ).

**Результаты.** Для оценки запасов железа в организме доноров наиболее информативным показателем, как показали наши предшествующие исследования, а также считают большинство авторов, является уровень сывороточного ферритина [5,9]. Снижение его концентрации – достоверный признак тканевого дефицита железа. Концентрация ферритина ниже референтных значений наблюдалась у 38,2% доноров (68 чел.), за исключением первичных доноров – мужчин. Вместе с тем показатели гемоглобина у 98,3% доноров находились в пределах референтных значений, которые установлены для доноров крови и ее компонентов [1]. Пограничные значения гемоглобина выявлены у 19,8% всех регулярных доноров крови и ее компонентов, лишь у трех женщин (1,7%) из разных групп его концентрация составила 119 г/л. Согласно существующим нормативам [1], доноры перед донацией проходят обследование на уровень гемоглобина, что не позволяет исключить наличие латентного железодефицита.

Для выявления влияния количества донаций на развитие железодефицитного состояния обследовано 130 доноров крови. Данные об изменении показателей обмена железа представлены в таблице 1. В контрольной группе уже при первой донации крови у трех из обследованных доноров – женщин отмечалось снижение концентрации СФ.

**Таблица 1**

**Влияние количества донаций крови на обмен железа ( $M \pm SD$ )**

Группы обследованных	Пол доноров	СФ (мкг/л)	рТФР (г/л)	НЖСС (мкмоль/л)	ОЖСС (мкмоль/л)
Первичные доноры (n=29)	Мужчины (n=15)	142,8±24,5 (33,3-379,0)	2,71±0,08 (2,15-3,3)	40,4±2,5 (21,7-57,7)	60,8±1,8 (49,6-75,3)
	Женщины (n= 14)	33,3±4,5 (9,3-65,9)	2,72±0,07 (2,3-3,1)	35,5±4,17 (2,4-55,0)	61,2±1,3 (52,7-69,1)
Доноры с количеством донаций 1-2 (n= 23)	Мужчины (n=12)	88,2±34,0* (8,5-296,0)	2,69±0,1 (2,3-3,5)	38,6±3,7 (22,0-64,1)	59,2±2,3 (52,2-77,8)
	Женщины (n= 11)	17,38±3,2* (3,5-37,2)	2,87±0,15 (3,1-5,1)	53,9±3,5* (30,2-67,3)	70,2±3,8 (56,5-96,8)

Продолжение таблицы 1

Доноры с количеством донаций 3-10 (n=31)	Мужчины (n=20)	39,3±4,2* (13,0–91,5)	3,89±0,4 (3,3–5,3)	47,9±3,5 (15,3–73,9)	67,5±1,7 (54,4–82,2)
	Женщины (n=11)	26,15±6,2 (12,0–77,4)	4,28±0,26* ** (3,1–5,9)	53,1±4,7 (27,8–77,4)	74,0±3,5 (53,6–101,4)
Доноры с количеством донаций более 10 (n=47)	Мужчины (n=28)	<b>28,1±4,4*</b> (7,2–101,8)	<b>4,19±0,2* **</b> (2,4–6,8)	<b>54,3±3,5* **</b> (1,5–76,9)	<b>72,9±1,6**</b> (53,7–88,4)
	Женщины (n=19)	29,8±3,8* (9,0–69,9)	3,49±0,28 (1,9–6,4)	42,8±2,7 (21,8–65,6)	65,5±2,2 (46,6–82,3)

Примечание: \*  $p < 0,01$  – по сравнению с группой первичных доноров; \*\* $p < 0,001$  по сравнению с группой после 1-2 донаций

После второй донации у доноров – женщин установлено повышение уровней рТФР, НЖСС и ОЖСС при значимом снижении концентрации ферритина. Причиной данного факта могут быть существенные изменения в показателях обмена железа, происходящие в первый год донорства, которые наиболее выражены у доноров – женщин. Известно, что запасов железа в организме женщин меньше (35–40 мг/кг), чем у мужчин (50 мг/кг массы тела) [10].

В последующем после третьей донации крови отмечено прогрессирующие снижение концентрации СФ у доноров – мужчин при сопутствующем повышении уровней рТФР и НЖСС. Установлено, что запасы железа по мере увеличения числа донаций постепенно уменьшаются, что особенно заметно по концентрации СФ у мужчин. Исследования показали значимое снижение СФ ниже референтных значений (30,0–400,0 мкг/л) у доноров – мужчин после десяти донаций крови. Изменения менее выражены у доноров – женщин, что вероятно связано с увеличением промежутка между донациями.

Следовательно, выявлено уменьшение концентрации СФ уже после второй донации крови с последующим его значимым снижением ниже референтного диапазона, что служит основанием для определения СФ при обследовании доноров после первой и каждой десятой донации крови.

С целью выявления влияния донаций компонентов крови на обмен железа проведен анализ результатов обследования 56 доноров. Отмечены случаи понижения концентрации ферритина ниже общепринятых пороговых значений у девяти мужчин и трех женщин (у женщин – 20,0–300,0 мкг/л). Уровень гемоглобина при этом оставался в регламентированных пределах, однако, у одного донора – мужчины и трех женщин на границе референтного диапазона (у мужчин – 130–180 г/л, у женщин – 120–165г/л).

При анализе динамики изменения показателей обмена железа у доноров тромбоцитов и смешанных донаций с данными контрольной группы (таблица 2), выявлены значимые различия.

Таблица 2

**Изменение показателей обмена железа у доноров крови и тромбоцитов (M±SD)**

Показатели	Доноры тромбоцитов	Доноры смешанных донации	Контрольная группа
<b>Мужчины</b>			
	n=23	n=9	n=5
СЖ мкмоль/л	21,6±1,61 (4,9–36,4)	24,8±3,4 (9,5–39,9)	24,9±3,5 (15,7–40,0)
ОЖСС мкмоль/л	68,3±1,65 (53,9–86,3)	64,3±2,8 (54,4–79,6)	58,5±3,4 (50,2–65,3)
НЖСС мкмоль/л	46,1±2,98 (18,6–77,0)	39,5±5,8 (15,3–67,1)	33,6±5,3 (21,7–45,4)
Ферритин мкг/л	55,9±6,99 (5,8–142,9)	67,9±11,8 (22,8–127,9)	129,4±6,9 (100,6–176,7)
ТФ г/л	2,98±0,08 (2,3–3,9)	2,87±0,11 (2,4–3,4)	2,57±0,15 (2,15–2,84)

Женщины			
	n=9	n=5	n=5
СЖ мкмоль/л	13,4±1,8* (5,6–16,7)	17,3±9,3 (5,8–47,8)	27,0±8,3 (13,0–50,2)
ОЖСС мкмоль/л	70,0±4,4 (58,6–85,9)	69,1±3,52 (64,6–80,2)	59,02±3,3 (52,7–67,7)
НЖСС мкмоль/л	56,6±4,9 (41,9–72,2)	51,8±12,8 (16,8–74,4)	32,04±5,4 (17,5–42,0)
Ферритин мкг/л	21,4±5,13 (9,6–53,5)	17,2±5,2* (2,4–25,7)	44,5±9,7 (22,1–65,9)
ТФ г/л	3,14±0,1 (2,6–3,9)	3,14±0,11 (2,9–3,6)	2,64±0,09 (2,3–3,1)

Примечание: \*  $p < 0,001$  – статистически значимые различия между контрольной группой, группой доноров смешанных донаций и доноров тромбоцитов

У женщин, доноров смешанных донаций, сдавших кроме плазмы и тромбоцитов еще и кровь, были установлены более низкие уровни ферритина и тенденция к увеличению ОЖСС и НЖСС. У доноров – мужчин таких различий не выявлено. Кроме того, отмечалась динамика снижения ферритина по сравнению с контрольной группой у доноров тромбоцитов.

**Обсуждение.** Результаты проведенного исследования свидетельствуют о прогрессирующем снижении СФ, выявленном у доноров – мужчин, сдающих кровь регулярно. У 66,6% доноров – мужчин с количеством донаций более 10 ферритин был ниже референтных значений. Снижение СФ выявлялось у 37% доноров – мужчин, сдающих тромбоциты методом афереза, независимо от частоты донаций. В группе молодых доноров – женщин у 58,3%, сдающих кровь 1-2 раза в течение года, и у 44,4% сдавших тромбоциты, концентрация СФ была ниже пороговых значений (20,0 мкг/л). При коротком интервале между донациями, особенно для доноров – женщин, сдающих кровь 3-4 раза в год, большое влияние на метаболизм железа оказывают пограничные допустимые цифры гемоглобина и (или) гематокрита перед донацией крови или тромбоцитов, хотя измерение уровня гемоглобина не позволяет тестировать запасы железа. В метаболизме железа имеют значение и индивидуальные особенности доноров, в частности, возможные заболевания желудочно-кишечного тракта, препятствующие абсорбции железа в кишечнике. Потеря около 250 мг железа при каждой донации при ограниченной способности к усвоению железа может привести к высокой частоте железодефицита у регулярных доноров, особенно женщин [2].

Исследования ряда авторов свидетельствуют о снижении запасов железа у доноров аферезных тромбоцитов [11,12]. В своей работе И.Н. Данило-

ва (2022) подтвердила снижение запасов железа у длительно сдающих тромбоциты доноров, однако более выраженное у мужчин (52,2%), чем у женщин (31%) [12]. Потери железа связывают с накопительным эффектом, в том числе с частотой сдачи крови для предварительного анализа, и с тем, что частично кровь остается в системе для афереза. При этом частота донаций может быть значительно выше, более 20 донаций в год и с более коротким интервалом. Установлено, что концентрация СФ снижается при повышении частоты афереза, но корреляции с донорским стажем не выявлено [7,8]. В ряде исследований показано, что снижение запасов железа можно устранить, увеличив интервалы между процедурами тромбоцитафереза ограничив их до 15 в год [12–14].

Наиболее информативным показателем обмена железа, не зависящим от возраста и пола, является концентрация рТФР, что позволяет выявить дефицит железа на клеточном уровне. Однако, определение рТФР в сыворотке крови не всегда доступный метод лабораторной диагностики. Следовательно, наиболее информативным остается исследование уровня СФ. Учитывая, что у лиц с недостаточными запасами железа может развиваться латентный дефицит железа, а со временем и анемия, было бы целесообразным ввести алгоритм обследования доноров с определением сывороточного ферритина (рис. 1).

Таким образом, регулярные донации у доноров крови и ее компонентов могут приводить к истощению запасов железа и возникновению латентного железодефицита. Однако содержание гемоглобина не всегда может характеризовать статус железа в организме. Сывороточный ферритин позволяет выявить скрытый дефицит железа, поэтому регулярным донорам необходимо проводить мониторинг соответствующего показателя. Анализ полученных данных показал, что выявленное снижение ферри-

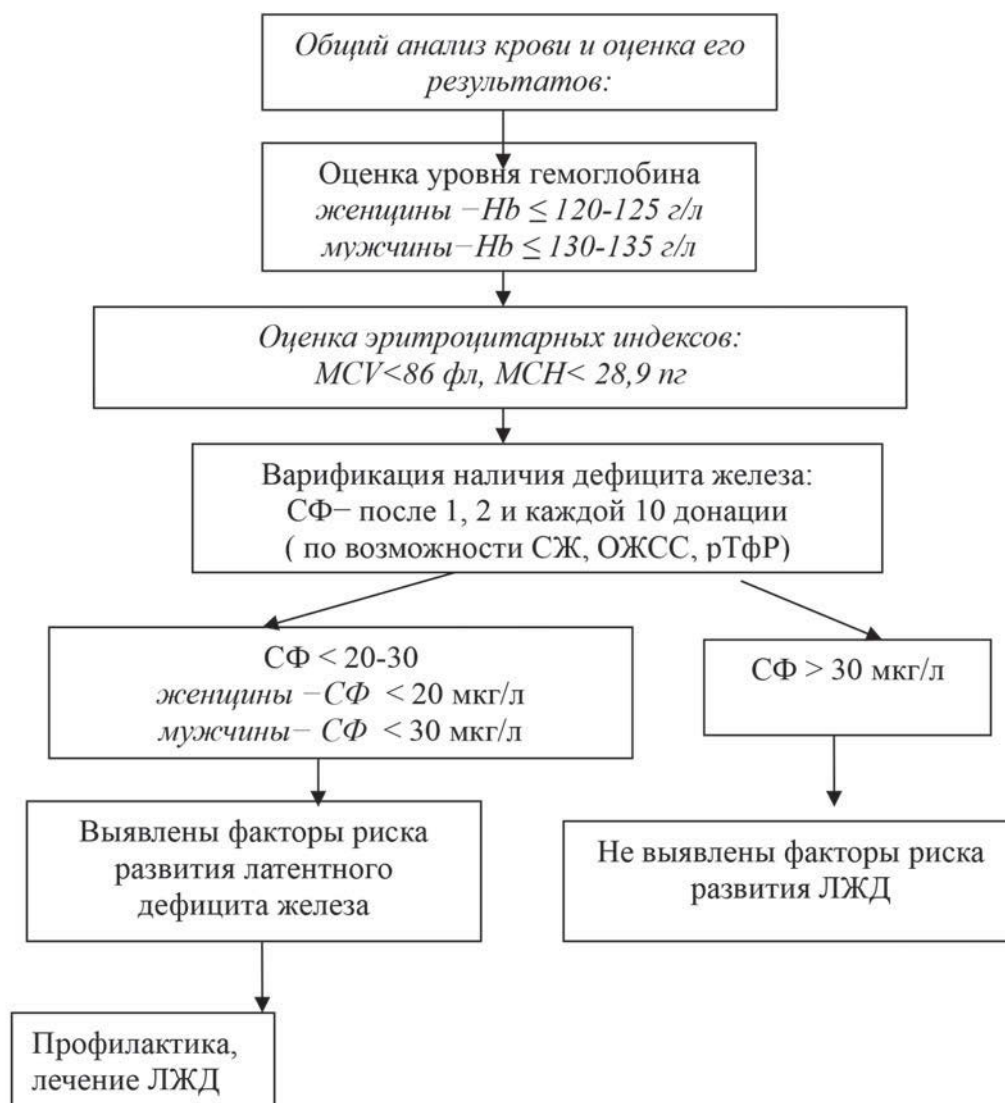


Рисунок 1. Алгоритм диагностики латентного дефицита железа у доноров крови и ее компонентов

тина позволяет сделать вывод об его отрицательной динамике у доноров трех групп:

- доноры с пограничным уровнем гемоглобина и (или) гематокрита,
- доноры – женщины смешанных донаций возрастной группы от 25 до 45 лет,
- доноры – мужчины, сдающие кровь более 10 раз.

Заключение. Проведенные исследования подтверждают необходимость комплексного изучения обмена железа у первичных и регулярных доноров крови и ее компонентов для предотвращения развития у них железодефицитного состояния. Эффективным мероприятием профилактики железодефицита является включение в перечень обязательных методов обследования доноров определения ферритина как индекса запасов железа.

Следовательно, при допуске к участию в донорстве следует ориентироваться на клиничко-лабораторное обследование доноров крови и ее компонентов, которое должно включать определение

тканевых запасов железа у всех первичных и регулярных доноров – один раз в год, особенно после каждой десятой донации крови для сохранения их здоровья и донорской активности.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Информация о финансировании

Финансирования данной работы не проводилось.

#### Вклад авторов

- Концепция и дизайн: все авторы
- Сбор и обработка данных: все авторы
- Представление материалов исследования: все авторы
- Анализ и интерпретация: все авторы
- Подготовка рукописи: все авторы
- Окончательное одобрение рукописи: все авторы

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 28.10.2020 г. №1166н «Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее компонентов» (зарегистрирован Министерством юстиции Российской Федерации 26.11.2020 г., регистрационный №61104).
2. Попович М. Ю. Железодефицитная анемия: оценка статуса железа в организме по уровню сывороточного ферритина с учетом рекомендаций ВОЗ (2020) // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2020. – Т. 6, №4. – С. 479–488.
3. Рогачевский О.В., Жибурт Е.Б., Чемоданов И.Г., Моисеев С.В. Железодефицитная анемия у доноров крови // Клиническая фармакология и терапия. – 2018. – Т. 27, № 3. – С. 4–9.
4. Четчин А.В., Данильченко В.В., Плоцкий Р.А. Проблема железодефицита у доноров крови и пути ее решения // Трансфузиология. – 2020. – Т. 21, № 2. – С. 129–145.
5. Gestsdottir E., Magnusson M.K., Lund S.H. et al. Monitoring iron stores in Icelandic blood donors from 1997 through 2019 // *Transfus Med.* – 2022. – Vol. 32, No. 2. – P. 128–134.
6. Vinkenoog M., HurkK.van den, Kraaij M.van et al. First results of a ferritin-based blood donor deferral policy in the Netherlands // *Transfusion.* – 2020. – Vol. 60, No.8. – P. 1785–1792.
7. Spencer B. R., Bialkowski W., Creel D.V. et al. Elevated risk for iron depletion in high-school age blood donors // *Transfusion.* – 2019. – Vol. 59, No. 5. – P. 1706–1716.
8. Kiss J. E., Vassallo R. R. How do we manage iron deficiency after blood donation? // *Br J Haematol.* – 2018. – Vol. 181, No. 5. – P. 590–603.
9. Гришина Г. В., Красильщикова И. В., Касьянов А. Д. и др. Динамика развития латентного железодефицита у доноров крови и ее компонентов // *Трансфузиология.* – 2023. – Т. 24, № 1. – С. 4–15.
10. Brittenham G. Pathophysiology of iron homeostasis // *Hematology: basic principles and practice* / Ed. R. Hoffman, E. J. Benz, L. E. Silberstein et al. – Elsevier, Philadelphia, 2018. – 6th ed, Chapter 35. – P. 468–477.
11. Красильщикова И. В., Сидоркевич С. В., Касьянов А. Д. и др. Проблемы выявления и ведения доноров с железодефицитом // *Трансфузиология.* – 2022. – Т. 23, № 2. – С. 106–116.
12. Данилова И. Н., Ковтунова М.Е., Сухорукова Э.Е. и др. Риск развития дефицита железа у доноров крови и ее компонентов // *Трансфузиология.* – 2022. – Т. 23, № S2. – С. 22–23.
13. Spencer B. R., Haynes J. M., Notari 4th E. P., Stramer S. L. Prevalence, risk factors, and ferritin testing to mitigate iron depletion in male plateletpheresis donors // *Transfusion.* – 2020. – Vol. 60, № 4. – P. 759–768.
14. Pfeiffer H., Hechler J., Zimmermann R. et al. Iron Store of Repeat Plasma and Platelet Apheresis Donors // *Clin Lab.* – 2021. – Vol. 1, № 67. – P. 2.

*Чеботкевич В.Н., Кулешова А.В., Грицаев С.В., Сидоркевич С.В., Бессмельцев С.С.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение "Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства", Санкт-Петербург, Российская Федерация*

## **МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА КАК ПРЕДИКТОР РАЗВИТИЯ СИСТЕМНЫХ ИНФЕКЦИЙ КРОВОТОКА У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК: ДАННЫЕ РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ**

### **Резюме**

Известно, что качественные и количественные изменения кишечной микробиоты играют важную роль как предикторы развития системных инфекций кровотока при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Значительно слабее изучена роль кишечной микробиоты при аутологичной ТГСК. В настоящее время показано, что эндогенная инфекция из кишечника выполняет ведущую роль в развитии грамотрицательных инфекций кровотока. Установлено, что доминирование типа *Proteobacteria* в спектре микробиома кишечника является самостоятельным фактором развития грамотрицательных инфекций кровотока у онкогематологических больных при аллогенной ТГСК. Целью нашего исследования явилось определение качественных и количественных характеристик кишечного микробиома, способствующих развитию системных инфекций у онкогематологических пациентов при высокодозной химиотерапии и аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в условиях реальной клинической практики. Мы провели исследование разнообразия кишечного микробиома в ходе аутологичной

ТГСК в реальных клинических условиях. Исследовали девять пациентов с множественной миеломой и фолликулярной лимфомой. Протокол включал сбор образцов стула до начала аутологичной ТГСК и в посттрансплантационный период. Показано, что снижение биоразнообразия кишечного микробиома является важным предиктором инфекций при ТГСК. Наши исследования показали, что достоверное ( $p=0,0215$ ) снижение индекса разнообразия наблюдается при аутологичной ТГСК. Доминирование типа *Proteobacteria* в спектре кишечного микробиома является самостоятельным фактором развития грамотрицательных инфекций кровотока. В целом мониторинг биоразнообразия кишечного микробиома может быть использован в реальных клинических условиях как при аллогенной, так и аутологичной ТГСК для выявления групп высокого риска развития инфекций кровотока. При мониторинге состава микробиома образцы следует оценивать как до, так и после ТГСК.

**Ключевые слова:** кишечная микробиота, предикторы инфекции, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

*Chebotkevich V.N., Kuleshova A.V., Gritsaev S.V., Sidorkevich S.V., Bessmeltsev S.S.*

*Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, Russian Federation*

## **INTESTINAL MICROBIOTA AS A PREDICTOR OF THE DEVELOPMENT OF SYSTEMIC BLOOD FLOW INFECTIONS IN HEMATOLOGICAL CANCER PATIENTS WITH AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION: DATA FROM THE REAL-LIFE CLINICAL PRACTICE**

### **Abstract**

It is known that qualitative and quantitative changes in the intestinal microbiota play an important role as predictors of the development of systemic bloodstream infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). The role of the intestinal microbiota in autologous HSCT is much less studied. It has now been shown that endogenous infection from the intestine plays a leading role in the development of Gram-negative bloodstream infections. It has been established that the dominance of the *Proteobacteria* type in the spectrum of the intestinal microbiome is an independent factor in the development of gram-negative bloodstream

infections in oncohematological patients with allogeneic HSCT. The aim of our work was to study the characteristics of the intestinal microbiome that contribute to the development of infections in oncohematological patients during high-dose chemotherapy with autologous HSCT in real clinical practice. We conducted a study to monitoring in real clinical conditions the diversity of the gut microbiome during autologous HSCT. Nine patients with multiple myeloma and follicular lymphoma were studied. The protocol included the collection of stool samples before the start of autologous HSCT and in the post-transplant period. Decreased gut microbiome biodiversity has been shown to be an important predictor

of infections in HSCT. Our studies have shown that a significant ( $p=0.0215$ ) decrease in the diversity index is also observed in autologous HSCT. The dominance of the Proteobacteria type in the spectrum of the intestinal microbiome is an independent factor in the development of gram-negative bloodstream infections. In general, monitoring of the biodiversity of the intestinal

microbiome can be used in real clinical conditions in both allogeneic and autologous HSCT to identify high-risk groups for developing bloodstream infections. When monitoring microbiome composition, samples should be assessed both before and after HSCT.

**Key words:** gut microbiota, infection predictors, autologous hematopoietic stem cell transplantation.

**Введение.** Системные инфекции кровотока являются тяжелыми жизненно опасными осложнениями у онкогематологических больных. Известно, что кишечный микробиом имеет значение как предиктор развития системных инфекций у онкогематологических больных при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК). Слабее изучена роль кишечной микробиоты при аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК). Следует также отметить, что большинство работ по изучению роли микробиома при инфекционных осложнениях основываются на ретроспективном анализе результатов исследования образцов биоматериала, собранных в течение ряда месяцев. Исследований роли кишечной микробиоты при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в реальной клинической практике нет.

**Целью** исследования явилось определение качественных и количественных характеристик кишечного микробиома, способствующих развитию системных инфекций у онкогематологических пациентов при высокодозной химиотерапии и аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в условиях реальной клинической практики.

**Материалы и методы.** Под нашим наблюдением

находилось 9 пациентов в возрасте 29-65 лет (медиана 47 лет), госпитализированных в ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России» в период с сентября по декабрь 2021 года для проведения аутологичной ТГСК (аутоТГСК). Протокол исследования включал сбор образцов кала, полученных от больных до проведения аутоТГСК и в разные сроки от 7 до 35 дней после ее проведения. Всего было получено и исследовано 27 образцов кала, по 3 образца от каждого пациента. Обязательным условием было получение первой пробы до трансплантации и последующих проб в разные сроки после ее проведения. В каждом из образцов биоматериала выполнялась ПЦР-амплификация V5 региона гена 16S рРНК с помощью модифицированных универсальных бактериальных праймеров. Очищенные ПЦР-продукты секвенировали с помощью платформы MiSeq Illumina. Были анализированы клинические и лабораторные данные, включая секвенирование в период госпитализации больных в стационаре.

**Результаты.** В таблице 1 представлена клинико-лабораторная характеристика обследованных пациентов, проводимая антибактериальная терапия и осложнения, возникшие после аутоТГСК.

**Таблица 1**

**Характеристика обследованных больных, вошедших в исследование**

Количество пациентов	9
Возраст (годы) медиана	47(29-65)
Пол	
Мужской	4
Женский	5
аутоТГСК	9
Основное заболевание	
Фолликулярная лимфома	1
Множественная миелома	8
Антибиотикотерапия в период госпитализации*	
Карбопенемы	5
Фторхинолоны	8
Цефалоспорины	1
Ванкомицин	2
Линезолид	3
Осложнения, возникшие после выполнения аутоТГСК	
Сепсис	1

*Примечание.* \*Антибактериальные препараты применяли в комплексе с другими лечебными мероприятиями.



Всем больным после выполнения аутоТГСК проводили профилактику инфекционных осложнений фторхинолонами. При возникновении инфекционных осложнений начинали лечение антибиотиками с учетом бактериологического исследования (табл. 1). По результатам исследования нами было установлено достоверное ( $p=0,0215$ ) снижение альфа-разнообразия кишечного микробиома у всех больных после проведения аутоТГСК. Причем, снижение индекса разнообразия (индекса Шеннона) выявлено в сроки до 7 дней после трансплантации у 8 из 9 обследованных больных, свидетельствуя от том, что после трансплантации место в микробиоме занимают отдельные виды часто условно патогенных микроорганизмов. Однако степень этого снижения среди больных различалась и наибольшее снижение индекса разнообразия выявлено на 7 сутки после выполнения аутоТГСК лишь у одного пациента с множественной миеломой (с 2,527 до 1,17).

Кроме того, в образцах биоматериала, полученных от 6 больных в эти же сроки после трансплантации, уровень типа *Proteobacteria* в микробиоте колебался от 1 до 6%, еще у двух больных он составил 10,24% и 26,86%. Только у одного больного с низким индексом разнообразия (1,17) уровень типа *Proteobacteria* был повышен более, чем на 30% (44,66%). Важно отметить, что у этого больного одновременно клинически был диагностирован грамотрицательный сепсис (температура выше 38°C, тахикардия, одышка) с развитием инфекционно-токсического шока (температура до 39°C, артериальная гипотония, олигурия), что потребовало смены антибиотиков, а в последующем назначения 2 антибиотиков различных групп (с учетом чувствительности бактерий к антибиотикам) и других экстренных лечебных мероприятий, необходимых в такой ситуации. Состояние пациента постепенно улучшилось, наблюдалось снижение температуры тела до нормальных значений, нормализация артериального давления. Следует отметить, что у других восьми наблюдавшихся пациентов инфекционных осложнений выявлено не было.

Обсуждение. Ранние исследования в области микробиома человека показали, что разнообразный кишечный микробиом имеет защитный эффект против ряда инфекций, включая способность предотвращать колонизацию кишечника полирезистентными бактериями, среди которых весомую долю составляют энтеробактерии с продукцией  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра [3]. Наши предыдущие исследования [4] показали, что достоверное снижение индекса разнообразия наблюдается при аутологичной ТГСК, что подтверждает прогностическое значение использованного подхода прогнозирования инфекций и при аутологичной ТГСК.

Высокодозная химиотерапия с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических

стволовых клеток является основным методом, применяемым для лечения гемобластозов, в частности, злокачественных лимфом и множественной миеломы [5,6]. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток достаточно подробно изучена именно в контексте микробиоты. Показано достоверное снижение индекса разнообразия микробиоты (индекса Шеннона) у пациентов в динамике при проведении аллогенной ТГСК, при этом выявлен негативный эффект антибиотиков и химиотерапевтических препаратов на многообразие микробиоты. Кроме того, установлено, что эффект разнообразия микробиоты является независимым фактором риска трансплантат-ассоциированной летальности в течение нескольких лет после аллоТГСК.

Известно, что разнообразный, высокодифференцированный кишечный микробиом обладает защитным эффектом против ряда инфекций, включая способность предотвращать колонизацию кишечника высокоустойчивыми патогенами [7]. Результаты настоящего исследования показывают, что достоверное снижение индекса биологического разнообразия микробиоты наблюдается и при аутоТГСК, что может осложниться присоединением тяжелой инфекции.

Как было указано выше, микробиологическая диагностика системных инфекций кровеносного русла, основанная на выявлении патогенов в крови, занимает не менее 24 часов и позволяет высевать возбудитель только в 40-60% случаев. Кроме того, эти методы не позволяют прогнозировать вероятность развития системных инфекций, что необходимо для их активной профилактики. Наиболее тяжелыми и жизненно опасными являются системные инфекции, вызванные грамотрицательными бактериями. Показано, что в развитии грамотрицательных инфекций кровотока ведущую роль играет эндогенное инфицирование из кишечника. При этом определяющую роль в этом процессе играет состав кишечной микробиоты. Помимо уменьшения биоразнообразия при ТГСК может наблюдаться почти полная замена микробиома одним типом бактерий. Установлено, что доминирование типа *Proteobacteria* является независимым фактором риска развития грамотрицательных инфекций кровотока [7]. В дальнейшем продемонстрирована возможность использовать этот феномен (доминирование типа *Proteobacteria*) в клинической практике для диагностики системных инфекций кровеносного русла у пациентов при аллогенной ТГСК [8,9]. Между тем результаты нашего исследования указывают на прогностическое значение оценки плотности микробиоты и увеличение в ней типа *Proteobacteria* (>30%) для диагностики инфекций кровеносного русла у пациентов при аутологичной ТГСК.

Таким образом, полученные нами результаты

исследования пациентов в условиях реальной клинической практики, свидетельствуют о том, что определение качественных и количественных характеристик кишечного микробиома необходимо не только при выполнении аллогенной, но и аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

### Выводы

– Состав микробиома кишечника влияет на частоту развития инфекций у онкогематологических пациентов при проведении аутологичной ТГСК.

– Увеличение типа *Proteobacteria* в спектре кишечного микробиома может служить предиктором развития системных грамотрицательных инфекций кровотока у больных при проведении высокодозной терапии и аутологичной ТГСК.

– При мониторинге состава микробиоты следует

оценивать образцы кала как до, так и после выполнения ТГСК.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Информация о финансировании

Финансирования данной работы не проводилось.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн: все авторы

Сбор и обработка данных: все авторы

Представление материалов исследования: все авторы

Анализ и интерпретация: все авторы

Подготовка рукописи: все авторы

Окончательное одобрение рукописи: В.Н. Чеботкевич, С.С. Бессмельцев

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yilmaz P, Parfrey L.W, Yarza P et al. The SILVA and “All-species Living Tree Project (LTP)” taxonomic frameworks. // *Nucleic Acids Res.* – 2014. – Vol. 42. – D643–D648.
2. McMurdie PJ, Holmes S (2013) phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. // *PLoS ONE.* – Vol. 8, N 4. – P. e61217.
3. Buffie G., Pamer E.G. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens//*Nat Rev Immunol.* - 2013. - Vol.13, N11. - P. 790-801.
4. Чеботкевич В.Н., Ковалев А.А., Стома И.О., Грицаев С.В., Бурылев В.В., Кулешова А.В., Киселева Е.Е., Стижак Н.П., Кострома И.И., Кайтанджан Е.И., Бессмельцев С.С. // *Изменения микробиома кишечника у пациентов с множественной миеломой при аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток // Вестник гематологии.* – 2022. – Том XVIII, № 1– С. 4–7.
5. Бессмельцев С. С. Множественная миелома / С.С. Бессмельцев, К.М. Абдулкадыров. - М., МК, 2016. - 504 с.
6. Rhee F, Giralt S, Barlogie B. The future of autologous stem cell transplantation in myeloma. // *Blood.* – 2014. - Vol. 124. – P. 328–333.
7. Стома И.О. Микробиота кишечника у пациентов с иммуносупрессией: переоценка взглядов на патогенез инфекций кровотока // *Клиническая инфектология и паразитология.* – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 224–233.
8. Stoma I, Littmann E.R, Pamer E.G. et al. Compositional flux within the intestinal microbiota and risk for bloodstream infection with gram-negative bacteria // *Clin Infect Dis.* – 2021. - Vol. 73, N 11. – P. e4627-e4635.
9. Stoma I, Uss M., Milanova E., Iscrov I, Uss A. Biodiversity screening of gut microbiome during the allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: data from the real-life clinical practice// *All Life.* – 2022. – Vol.15, N 1. –P. 547-554.

Пирогова О.В.

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой ПСПбГМУ им. И. П. Павлова

## АМИЛОИДОЗ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ (AL-АМИЛОИДОЗ)

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### Резюме

Амилоидозы — это общий термин для группы заболеваний, обусловленных неправильной агрегацией белков и их отложением в органах и тканях в виде нерастворимых белковых фибрилл. Основой амилоида является фибрилла, построенная из скрученных белковых протофиламентов. Системный амилоидоз легких цепей (AL) — одна из форм плазмноклеточных дискразий, характеризующихся гиперпродукцией свободных легких цепей иммуноглобулина клональными плазматическими клетками или В-лимфоцитами. В этом обзоре описывается история открытия, этапов диагностики и изменения подходов к терапии AL-амилоидоза. Выживаемость при AL-амилоидозе зависит от спектра вовлеченных в процесс органов, тяжести их поражения и гематологического ответа на лечение. Фибриллы легких цепей инфильтрируют миокард, препятствуют межклеточному взаимодействию, что приво-

дит к повреждению клеток и внезапной сердечной смерти. Вот почему поражение сердца является основным предиктором исхода заболевания. Современный подход к диагностике и лечению основан на выделении наиболее уязвимой группы больных с IIIb стадией поражения сердца. Основной целью терапии является быстрое и глубокое подавление продукции амилоидогенных легких цепей. Терапия мелфаланом и аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток долгое время считались стандартом лечения AL-амилоидоза, но добавление таргетных препаратов — бортезомиба, даратумумаба и венетоклакса кардинально повысило эффективность лечения.

**Ключевые слова:** AL-амилоидоз, плазматические клетки, бортезомиб, даратумумаб, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

*Pirogova O.V.*

*Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, First Pavlov Saint Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg*

## AMYLOIDOSIS OF IMMUNOGLOBULIN LIGHT CHAINS (AL-AMYLOIDOSIS) LITERATURE REVIEW

**Abstract.** Amyloidosis is a general term for a group of diseases that are caused by the misfolding of proteins and their deposition in organs and tissues in the form of an insoluble protein fibrils. The base of amyloid is the fibril that built up by twisted protein protofilaments. AL amyloidosis is one the form of plasma cell disorders, characterized by overproduction of misfolded immunoglobulin light chains by clonal plasma cells or B-lymphocytes. Survival in AL amyloidosis depends on the spectrum of organ involvement, the severity of organs involved and hematological response to treatment. Light chain fibrils infiltrate the myocardium, interfere with cell-cell coupling, disrupt cellular integrity and may contribute to cell injury and sudden death. That

is why the cardiac involvement is the main predictor of patient outcome. The modern approach to diagnosis and treatment based on identification the most vulnerable group of patients with stage IIIb heart disease. The main goal of therapy is rapidly and profoundly suppress the production of amyloidogenic light chains. For a long time, therapy with melphalan and autologous hematopoietic stem cell transplantation considered a standard of care in AL amyloidosis, but the addition of the targeted drugs - bortezomib, daratumumab and venetoclax increased the efficacy of treatment dramatically.

**Key words:** AL amyloidosis, plasma cells, bortezomib, daratumumab, light chain fibrils

**Амилоидоз** — это общий термин для группы сложных заболеваний, которые вызваны неправильным сворачиванием белков и их агрегацией в высокоупорядоченные амилоидные фибриллы, которые откладываются в тканях, что приводит к про-

грессирующему повреждению органов. Со временем накопление амилоида может привести к серьезной дисфункции органов [1].

Амилоидоз легких цепей иммуноглобулинов (AL-амилоидоз) и амилоидоз тяжелых цепей имму-

ноглобулинов (АН-амилоидоз) представляют собой заболевания плазматических клеток, характеризующиеся отложением нерастворимых амилоидных фибрилл, состоящих из цепей иммуноглобулина, в тканях, что в дальнейшем приводит к прогрессирующему ухудшению функций органов [2]. Большая часть литературы на сегодняшний день относится к AL-амилоидозу, более распространенному типу. Поскольку нет доказательств четкой разницы в клинической картине, лечении или прогнозе между AL- и АН-амилоидозом, оба типа называются AL-амилоидозом.

### **Первые описания амилоидоза: селезенка с «белыми камнями», жирная печень**

Ранние описания амилоидоза сводятся к представлению о жировом перерождении селезенки и печени.

Первый случай, которому присваивают описание саговой селезенки при амилоидозе датируется 1639 годом. Николао Фонтано (Фонтейн – Николаус Фонтанус) представил данные вскрытия молодого человека с асцитом, желтухой и носовым кровотечением, у которого был абсцесс в печени и большая селезенка, заполненная «белыми камнями». Второе описание саговой селезенки совершил Томас Бартолин, первооткрыватель лимфатической системы человека. Он сообщил о вскрытии женщины с твердой селезенкой, которую было невозможно разрезать ножом, при этом издавался звук, похожий на звук разрезания губчатого дерева. В 1722 г. Джереми Уэйнрайт описал пациента, у которого в течение нескольких лет были «струмозные опухоли на шее», гепатомегалия (в два-три раза больше нормы) и «гипофизарное вещество глинистого цвета» в печени, которое, по мнению некоторых, представляло собой амилоид [3]. В 1789 г. Антуан Порталь впервые описал печень пожилой женщины, в составе которой были вещества, похожие на сало. В 1842 г. Карл Рокитанский дал характеристику сальной инфильтрации печени серым белково-студенистым веществом у больных туберкулезом, сифилисом и при отравлении ртути [4]. В дальнейшем в 1852 г., описывая похожие изменения у пациентов с туберкулезом костей, Джордж Бадд пришел к выводу о белковой, а не жировой природе накапливаемого вещества, при этом у двух пациентов он нашел похожие изменения в почках [5,6].

Уильям Гэрднер в своем отчете «О некоторых моментах патологии печени», прочитанном обществу патофизиологов Эдинбурга 28 января 1854 г., представил данные о том, что содержание жира у пациентов с «восковой дегенерацией печени» не превышало нормы, а структура больше напоминала «белковый материал», отложение которого приводило к снижению функции и потере типичных структурных особенностей печени [7].

Слово «амилоид» впервые упоминается в книге немецкого ботаника Матиаса Шлейдена в 1842 г.

Матиас Шлейден занимался изучением применения йод-серноокислотного теста для обнаружения крахмала в растениях. Термин «амилоид» он использовал для описания крахмала, имея в виду «крахмалоподобный». Само слово «амилоид» происходит от латинского слова «amylum», что и означает крахмал [8].

В медицинской литературе первое упоминание термина «амилоид» датировано 1854 г. Немецкий патолог Рудольф Вирхов в своей публикации описал небольшие круглые отложения в нервной ткани, которые давали реакцию с йодом и серной кислотой, меняя цвет от коричневого до синего, что характерно для крахмала, поэтому Вирхов был убежден, что эти структуры идентичны крахмалу [9]. Вирхов назвал эти структуры «*corpura amyloacea*». В дальнейшем подобные отложения он нашел и описал в пищеварительном тракте, в клубочках и приносящих артериолах почек. Иоганн Меккель, сменивший Вирхова на посту прозектора больницы Шарите в Берлине, считал, что амилоид состоит из холестерина и не имеет сходств с крахмалом. При этом он обнаружил подобные отложения не только в печени и почках, но еще и в артериях, аорте и стенке кишки [10].

В 1859 г. меняется представление о составе амилоида. Немецкий химик Август Кекуле сообщил о большом содержании азота в органах, инфильтрированных амилоидом, предположив наличие в структуре «альбумоидных» соединений, он сообщил, что химически амилоид не соответствует крахмалу или целлюлозе [11]. Тем не менее, несмотря на отсутствие в составе крахмала или целлюлозы, термин «амилоид» прочно закрепился и не подлежал замене. Вирхов до конца жизни придерживался своей теории, и настаивал, что «только когда мы откроем способы выделения амилоидного вещества, мы сможем прийти к какому-либо определенному заключению относительно его природы».

Вероятно, первое упоминание об AL-амилоидозе датировано 1856 г., когда Сэмюэл Уилкс описал мужчину 52 лет с сальными внутренностями, при этом изменения не были связаны с наличием другого заболевания, например, сифилиса, остеомиелита, заболевания костей или туберкулеза. У больного была водянка и альбуминурия, на аутопсии сердце увеличено в размерах, селезенка твердая и жирная, почки имели значительные жировые отложения. При этом самым нетипичным была длительность заболевания, пациент отмечал эпизоды водянки в течение 8 лет, что не укладывалось в обычное течение амилоидоза [12].

Через 9 лет в 1865 году Уилкс опубликовал еще 60 случаев сальной болезни, среди которых были 5 случаев без признаков основного заболевания (сифилиса, туберкулеза или заболевания костей) [13]. В 1867 г., вероятно, был описан первый случай амилоидоза, связанного с множественной миеломой. На аутопсии были обнаружены спонтанные пере-

ломы грудины с замещением серовато-красным веществом, содержащим множество мелких ядро-содержащих клеток. Идентичные находки присутствовали и в других костях. Левый желудочек сердца гипертрофирован, почки и селезенка содержали амилоид [14].

В 1875 г. французский патолог и гистолог Андре Виктор Корниль в Париже, австрийский анатом Рихард Хешль в Вене и Рудольф Юргенс в Берлине, независимо друг от друга, описали новый метод обнаружения амилоида – метакроматические пятна – окрашивание анилиновым красителем метилвиолетом. Этот метод окраски позволил определить внеклеточный характер отложений амилоида, и в 1876 г. обнаружить амилоид в сердечной ткани [15]. Метахроматические пятна использовали вплоть до 1922 г., когда этот метод был заменен на окраску конго красным [16]. В 1927 г. при исследовании бляшек у пациентов с болезнью Альцгеймера впервые описан феномен яблочно-зеленого свечения амилоида, окрашенного Конго красным, в поляризованном свете [17].

#### **Начало изучения AL-амилоидоза**

В 1929 г. Любарш описал 3 случая «первичного» амилоидоза и представил критерии отличия первичного от вторичного амилоидозов [18]. Самым главным критерием первичного амилоидоза было отсутствие ранее существовавшего заболевания, которое могло вызвать накопление амилоида [19]. В 1931 г. Адольф Магнус-Леви обнаружил амилоидоз у 29 из 150 пациентов с множественной миеломой [20,21], и задумался о том, что белок Бенс-Джонса может быть «материнским веществом» амилоидоза [22]. Через 7 лет он проанализировал 31 случай пациентов с множественной миеломой и отложением амилоида в костном мозге, и 18 случаев, когда амилоид обнаруживался в других органах (например, в мышцах и околоуставных областях). Его идея заключалась в том, что клетки миеломы продуцируют амилоид, который накапливается в кости и, по мере развития болезни, прорывается через кость и инфильтрирует мышцы и жировую ткань. При этом возникновение амилоида связано с гиперпродукцией белка Бенс-Джонса и снижением его метаболизма [23]. Позднее, в 1952 г. Магнус-Леви, исходя из своего 50-летнего опыта изучения амилоидоза, предсказал, что в скором будущем можно будет выделить чистый амилоид и определить его связь с другими белками [24]. В 1937 г. Аткинсон сделал вывод, что 15% пациентов с множественной миеломой также имеют амилоидоз [25].

Попытка осмысления различных вариантов амилоидозов была сделана в 1940 г., когда Курт Апиц описал различную клиническую картину пациентов с амилоидозом при хронических инфекциях и параамилоидом, связанным с белком Бенс-Джонса. При хронических инфекциях амилоид обнаруживался в основном в печени, селезенке и почках, в то время

как при множественной миеломе амилоид находили в сердце, языке, периартикулярных тканях, легких и подкожной клетчатке [26].

Параллельно с изучением клинически разных амилоидозов шло изучение структуры амилоида, химического состава, предпринимались попытки выделения амилоида из тканей. В 1959 г. произошло революционное событие. Алан С. Коэн из Гарвардской медицинской школы в Бостоне и Эван Калкинс из Массачусетской больницы общего профиля при помощи электронной микроскопии установили неветвящуюся фибриллярную структуру амилоида при различных вариантах амилоидоза, после чего они предложили несколько способов выделения амилоида из тканей [27,28].

Значимый вклад в изучение системного AL-амилоидоза и его связи с множественной миеломой внес Роберт Кайл. В 1961 г. он представил анализ 81 случая первичного амилоидоза, описал клиническую картину, выживаемость пациентов, а также проанализировал костный мозг и электрофореграммы. В своем исследовании он сделал вывод о тесной связи между первичным амилоидозом и множественной миеломой, а также о лежащем в основе первичного амилоидоза пролиферативном заболевании плазматических клеток («ни у одного пациента с системным амилоидозом костный мозг не был полностью нормальным») [29]. 1968 г. ознаменовался открытием складчатой структуры амилоидной фибриллы. При помощи рентгеноструктурного анализа Эйнес и Гленнер увидели перекрестную  $\beta$ -рентгенограмму, интерпретировав это как структуру «складчатого листа», образованную амилоидной полипептидной цепью, складывающейся регулярным образом на самой себе, так, что соседние сегменты цепи были расположены антипараллельно латерально [30]. А уже в 1971 г. Гленнер и соавторы выявили в составе амилоида аминокислотную последовательность к-легкой цепи, доказав связь амилоида и белка Бенс-Джонса [31]. В дальнейших опытах они продемонстрировали, что моноклональные легкие цепи, выделенные у пациента с миеломой без амилоидоза при определенных условиях, могут образовывать амилоидные фибриллы *in vitro*, тем самым сделав вывод о необходимости дополнительных факторов для формирования амилоида [32].

За 20 лет дальнейшего изучения и терапии AL-амилоидоза выживаемость пациентов оставалась низкой. В 1975 г., 1983 г., 1995 г. опубликованы данные 132, 229 и 474 пациентов, медиана выживаемости составила 15, 12 и 13 месяцев соответственно [33–35].

Попытки терапии колхицином, препаратом, ингибирующим индукцию амилоидоза у мышей, привели к увеличению выживаемости пациентов с 6 до 17 месяцев [36]. Связь первичного амилоидоза с пролиферацией плазматических клеток навела на мысль об использовании алкилирующих аген-

тов, эффективных против плазматических клеток, синтезирующих моноклональные легкие цепи. На 55 пациентах было проведено плацебо-контролируемое испытание терапии мелфаланом и преднизолоном. В группе химиотерапии нефротический синдром исчез у 2 пациентов, а экскреция белка с мочой уменьшилась более чем на 50% у 8, при этом выживаемость между группами не отличалась [37]. В 1997 г. Роберт Кайл опубликовал данные рандомизированного исследования сравнения терапии мелфаланом и преднизолоном против колхицина или мелфалана, преднизолона против тройной комбинации. Основным выводом, что терапия мелфаланом и преднизолоном улучшает выживаемость пациентов и приводит к объективным ответам [38]. В 1998 г. Раймонд Коменцо и соавторы сообщили об успешной терапии высокодозным мелфаланом с поддержкой аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у 20 пациентов с первичным AL-амилоидозом [39].

### XXI век

Развитие различных методов визуализации и оценки структуры, таких как рентгеновская кристаллография, микроэлектронная дифракция, спектроскопия ядерного магнитного резонанса, кри-

оэлектронная микроскопия и другие, позволили полностью проанализировать складчатую структуру амилоида до отдельных субъединиц, и оценить, как они формируют фибриллы, образующие впоследствии бляшки и клубки.

Развитие белкового анализа посредством масс-спектрометрии позволило идентифицировать более 50 белков-предшественников амилоида [40], некоторые образуют локальные отложения, такие как  $\beta$ -амилоид при болезни Альцгеймера, что приводит к локализованному амилоидозу, а другие накапливаются во всех тканях организма (системный амилоидоз) [41]. Как минимум 17 белков могут вызывать системный амилоидоз, тяжелые и легкие цепи иммуноглобулинов примечательны тем, что способны формировать как системные отложения амилоида, так и локальные, например, в уретелии или гортани [42]. Системный амилоидоз может быть наследственным или приобретенным. Две наиболее распространенные формы системного амилоидоза — амилоидоз легких цепей иммуноглобулинов (AL-амилоидоз) и дикий тип транстиретинового амилоидоза (ATTR-амилоидоз) — являются приобретенными. Наиболее частые варианты системных амилоидозов представлены в таблице 1.

Таблица 1

### Наиболее распространенные системные амилоидозы

Тип амилоидоза	Белок-предшественник	Системный и/или локализованный	Приобретенный или наследственный	Клиническая картина
AL (ранее назывался первичным амилоидозом)	$\kappa$ или $\lambda$ легкая цепь иммуноглобулина	Системный и локализованный	Приобретенный	Сердце, почки, печень, мягкие ткани, периферическая нервная системы (включая вегетативную нервную систему) и желудочно-кишечный тракт
ATTR	Транстиретин	Системный	Наследственный	Периферическая нервная система (включая вегетативную нервную систему), сердце, глаза, почки и лептоменингеальные оболочки.
ATTRwt	Транстиретин	Системный	Приобретенный	Сердце и связки
AA	Сывороточный амилоид А	Системный	Приобретенный	Преимущественно почки, но может поражаться печень, желудочно-кишечный тракт и иногда сердце, щитовидная железа и вегетативная нервная система
ALECT2	Лейкоцитарный хемотаксический фактор 2	Системный	Приобретенный	Почки, печень, селезенка, надпочечники и легкие
AApoAI	Аполипопротеин AI	Системный	Приобретенный	Сердце, печень, почки, периферическая нервная система, яички, гортань и кожа
AFib	$\alpha$ -цепь фибриногена	Системный	Приобретенный	Почки, в первую очередь, с облитерирующим поражением клубочков
A $\beta$ 2m	$\beta$ 2-микроглобулин дикого типа	Системный	Приобретенный (связанный с гемодиализом)	Костно-мышечная система
A $\beta$ 2m	$\beta$ 2-микроглобулин	Системный	Наследственный	Автономная нервная система

### Образование амилоидных фибрилл

В основе любого амилоидоза лежит механизм превращения глобулярных растворимых белков в нерастворимые амилоидные фибриллы, которые откладываются в жизненно важных органах и нарушают их функции [1].

Синтез полипептидной цепи белка происходит в эндоплазматическом ретикулуме, после чего, основываясь на термодинамических принципах, белок спонтанно сворачивается в соответствии с аминокислотной последовательностью и приобретает свою трехмерную структуру. Тем не менее, белки склонны к переходу в нестабильное состояние разворачивания и нуждаются в шаперонах для поддержания правильно сложенной структуры [43]. Для образования амилоидных фибрилл белки-предшественники должны иметь частично развернутую структуру. Внеклеточные стимулы, такие как низкая pH, окисление или высокая температура, нарушают трехмерную структуру белка и способствуют разворачиванию полипептидных цепей [44]. В норме внутриклеточно и внеклеточно белковый гомеостаз (протеостаз) поддерживает стабильное состояние белков в нативной конформации, в правильном месте и в правильной концентрации, предотвращая тем самым их агрегацию [45,46]. Неправильно свернутые или развернутые белки естественным образом возвращаются к своей нативной структуре, но иногда они сворачиваются в ложную структуру, отличающуюся от исходной конформации. Обычно

они расщепляются и удаляются протеасомами [47], но некоторые из них высвобождаются во внеклеточное пространство и повторно собираются в трехмерную конформацию, которая богата β-слоями, и полимеризуются друг с другом с образованием амилоидных фибрилл [48].

Факторы, способствующие агрегации белка, разнообразны, среди них: 1) мутации, которые приводят к изменению, либо дестабилизации нативной структуры белка, 2) повышение концентрации за счет гиперпродукции белка (моноклональные легкие цепи, белок острой фазы сывороточного амилоида А (SAA)), 3) нарушенный клиренс белка, который также приводит к увеличению его концентрации (β2-микроглобулин при хроническом гемодиализе), 4) склонность определенных белков к образованию амилоидных фибрилл, связанная со старением [49].

### Образование амилоидных фибрилл при AL-амилоидозе

В основе патогенеза AL-амилоидоза лежит, как правило, индолентный В-клеточный клон, который в 75–80% продуцирует мутантную легкую цепь иммуноглобулина λ [49]. Примерно у 40–60% пациентов клон характеризуется наличием t(11;14) [50].

На первом этапе происходит гиперпродукция свободных легких цепей клональными плазматическими клетками. Соматические мутации, возникающие в генном кластере, кодирующем переменную область легкой цепи (IGLV), приводят к тому, что легкие цепи приобретают свойства, способствующие

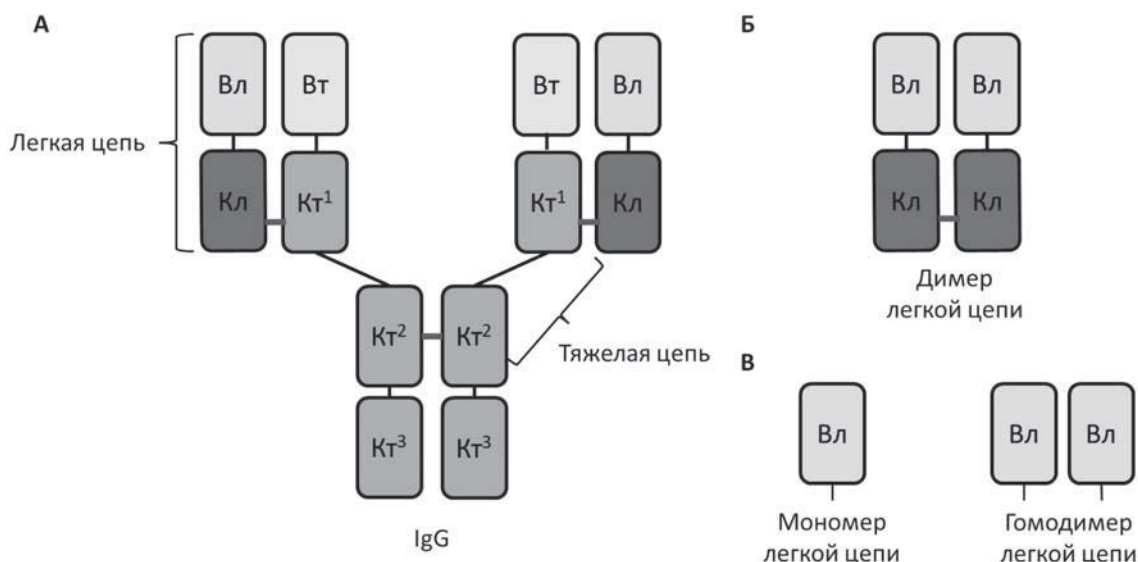


Рисунок 1. Структурные элементы антитела. А. Антитело IgG состоит из двух идентичных легких цепей и двух идентичных тяжелых цепей. Б. димер легкой цепи. В. мономеры и гомодимеры переменного домена легкой цепи, которые возникают в результате расщепления легкой цепи. Дисульфидные связи обозначены красными линиями. Вл- переменный домен легкой цепи, Вт - переменный домен тяжелой цепи, Кл – константный домен легкой цепи, Кт – константный домен тяжелой цепи.

щие их дальнейшей агрегации [51]. В отличие от легких цепей, продуцируемых при множественной миеломе, амилоидогенные легкие цепи имеют низкую стабильность трехмерной конфигурации и высокую белковую динамику [52,53]. Это лаг-фаза, во время нее не происходит осаждения белков в тканях и она может продолжаться неопределенно длительное время. Как только накапливается критическая концентрация нестабильных амилоидогенных легких цепей, начинается фаза зарождения или формирования ядра [54].

Мутантные амилоидогенные легкие цепи, попадая в кровотоки, вследствие низкой стабильности разворачивают свою конфигурацию. Из-за нарушения или подавления внеклеточного протеостаза происходит протеолиз легкой цепи (частичное расщепление). В результате расщепления амилоидогенных легких цепей образуются мономеры и димеры легких цепей, которые также могут пересобираться в гомодимеры, содержащие только переменные домены легких цепей (рисунок 1) [55,56]. Ранее считалось, что наибольшей склонностью к образованию фибрилл обладают гомодимеры переменных доменов легких цепей, хотя в последующем в структуре фибриллы нашли и полные молекулы легких цепей, и константные домены легких цепей [57–61]. Таким образом, протеолиз легких цепей играет важную роль в запуске образования последующих структурных единиц фибриллы амилоида.

Дальнейшее взаимодействие монодимеров и димеров легких цепей с факторами плазмы приводит к образованию более сложных структур – гексамеров и далее, олигомеров (структура олигомеров неизвестна и, возможно, изменчива) [62,63]. Непосредственно в тканях олигомеры или их предшественники взаимодействуют с тканевым микроокружением, в том числе с компонентами внеклеточного матрикса (такими как гликозаминогликаны, коллаген и липиды) [64], протеазами, металлами (в частности, медью) [65]. Результатом этих взаимодействий становится дальнейший структурный переход, при котором формируется типичная параллельная структура  $\beta$ -листов, характерная для фибрилл, зарождается ядро будущей фибриллы амилоида. Клетки также участвуют в осаждении белка за счет его взаимодействия с клеточной мембраной [66].

Сывороточный амилоид Р (SAP) повсеместно присутствует в отложениях амилоида и защищает амилоидные фибриллы от деградации. Гликозаминогликаны служат каркасом и облегчают образование фибрилл [67]. Часть олигомеров не могут производить фибриллы (тупиковая сборка), но при этом они оказывают непосредственное токсичное действие на клетки, нарушая их функцию и снижая жизнеспособность [62].

После того, как сформировались ядра, кинетика образования фибрилл резко меняется, наступает фаза удлинения или элонгации. Амилоидные фи-

бриллы могут фрагментироваться, освобождая новые концы, на которые прикрепляются следующие мономеры. Таким образом, фибрилла реплицирует и распространяет свою собственную структуру вдоль оси волокна, используя свою концевую структуру в качестве шаблона. Этот режим реакции называется «полимеризацией, зависимой от образования ядра» [68]. Во время фазы элонгации увеличение размеров амилоида происходит очень быстро за счет быстрого накопления амилоидных фибрилл (рисунок 2). Концентрация частично свернутых белков, необходимых для удлинения амилоидных фибрилл в 10-20 раз меньше, чем концентрация, необходимая для формирования первого фибриллярного ядра [67].

Повреждение органов происходит за счет двух механизмов: 1. Накопление амилоидных отложений в тканях, что вызывает дисфункцию жизненно важных органов. 2. Токсическое действие растворимых олигомеров, способных вызывать повреждение клеточной мембраны [48].

Ранняя диагностика AL-амилоидоза и использование эффективной терапии, вызывающей быстрое и глубокое снижение количества предшественников амилоида (амилоидогенных легких цепей), имеет решающее значение для остановки роста фибрилл и прогрессирования заболевания. Амилоидные отложения в целом очень устойчивы к деградации, однако за счет эндогенных иммунологических механизмов, в которых важную роль играют макрофаги, происходит медленное естественное очищение от амилоидных отложений [69]. Исчезновение амилоидных отложений может в значительной степени способствовать восстановлению функции органов [70].

### Клиническая картина

AL-амилоидоз – великий имитатор. Отложение амилоида может возникать в любом органе и ткани, кроме головного мозга. Самый частый и самый неспецифичный симптом системного AL-амилоидоза – это усталость. О ней сообщают 80% пациентов. Другие распространенные симптомы включают одышку при физической нагрузке, периферические отеки, парестезии, потерю веса, пурпуру, дисгевзию, сухость во рту [71]. Эти симптомы часто вводят в заблуждение клиницистов, которые принимают их за проявления сердечной недостаточности или сахарного диабета.

У 60–80% пациентов имеет место поражение сердца и почек [72].

Поражение сердца определяется на основании типичных признаков (рестриктивная кардиомиопатия с сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса). Также нередко у пациентов с тяжелым поражением сердца может быть имитация инфаркта по ЭКГ с отсутствием стеноза коронарных сосудов на коронарографии. Поражение почек определяется наличием неселективной протеинурии



более 0,5 г/24 ч [73], больше половины пациентов с почечным AL-амилоидозом имеют нефротический синдром [74]. У части пациентов на момент диагноза имеет место хроническая болезнь почек. Поражение нервной ткани проявляется симметричной демиелинизирующей периферической полинейропатией (болевая форма, онемение рук и ног по типу носков и перчаток, ощущение ползания мурашек, ощущение мокрых ног, ознобы, зуд, жжение), вегетативной нейропатией (ортостатическая гипотензия, нарушение дефекации (запоры, поносы), раннее насыщение, эректильная дисфункция, задержка мочи или ложные позывы). Часто у пациентов с запущенными стадиями имеет место осиплость или охриплость голоса вследствие поражения гортанного нерва. Вовлечение печени проявляется гепатомегалией и/

или повышением уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови, а также желтухой. В случае, если печень является единственным пораженным органом, пациенту часто ошибочно ставят диагноз цирроза печени. Проявления повреждения желудочно-кишечного тракта – это диарея, запор, мальабсорбция, похудание, желудочно-кишечные кровотечения. Отложения амилоида могут накапливаться в мышцах (мышечная слабость, миалгия, псевдогипертрофия, атрофия), суставах (полиартропатия), селезенке (гипоспленизм), легких (одышка, кашель, диффузные интерстициальные инфильтраты при визуализации) и коже (алопеция, пурпура).

Кожный геморрагический синдром также может быть связан с дефицитом факторов свертывания крови, таких как фактор X, который застревает в

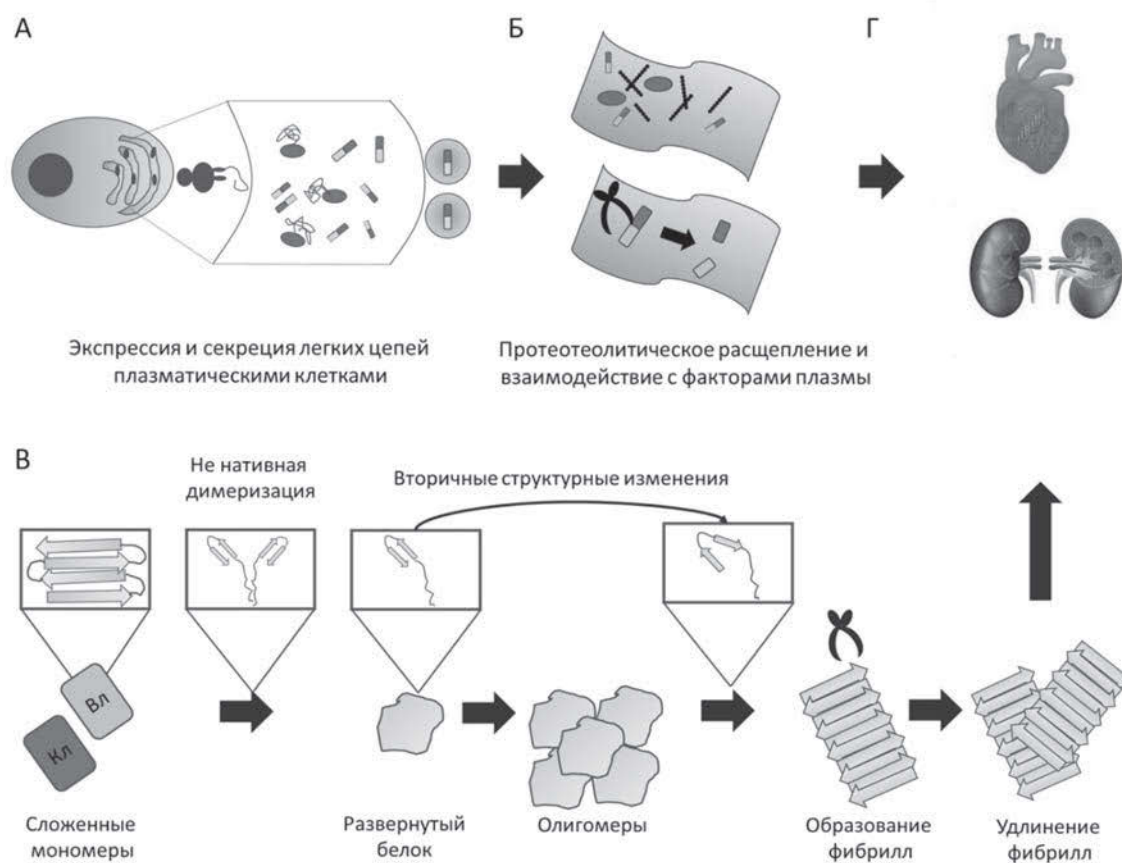


Рисунок 2. Путь образования AL-амилоида. А. Мутантные легкие цепи (ЛЦ) сверхэкспрессируются и секретируются злокачественными В-клетками. На увеличенном изображении эндоплазматический ретикулум (ЭР). Синие эллипсоиды представляют шапероны ЭР, прямоугольники - ЛЦ. (Б) ЛЦ попадают в кровоток, где могут проходить протеолиз и взаимодействие с факторами плазмы. Красные эллипсоиды — клетки крови, черные линии — гликозаминогликаны. (В) Чтобы войти в путь фибрилл, ЛЦ или их варибельный домен Вл разворачиваются, димеризуются и олигомеризуются с последующим переключением вторичной структуры в сторону параллельных β-листов, что приводит к образованию и удлинению фибрилл. (Г) Волокна откладываются в различных органах и нарушают их функцию. До сих пор неясно, происходит ли протеолитическое расщепление в кровотоке, в органах или после образования фибрилл.

амилоидных фибриллах печени. Поражение сосудов может привести к хромоте или стенокардии, а также к нарушению жевательной функции. У разных пациентов проявления заболевания могут быть разными, точные молекулярные механизмы, лежащие в основе поражения конкретных органов при AL-амилоидозе, не ясны. Несколько исследований продемонстрировали, какие гены варибельного домена легкой цепи способствуют тропности амилоида к определенным органам. Например, ген зародышевой линии IGKV1-33 преимущественно нацелен на печень [75], мезангиальные клетки почки имеют склонность к образованию амилоидных фибрилл при инкубации с производными легкой цепи от IGLV6-57 [76], сердечный тропизм связан с геном зародышевой линии IGLV1-44, который обеспечивает пятикратное увеличение вероятности доминантного поражения сердца [75,77].

### Диагностика

Распознать амилоидоз на ранних этапах довольно сложно, учитывая неспецифичность симптомов и гетерогенность проявлений. Среднее время от появления симптомов до установления диагноза составляет примерно от 6 до 12 месяцев [71]. Первая проблема — это неправильная самоинтерпретация пациентом симптомов, которая приводит его к непрофильным специалистам, и до момента установления диагноза он посещает от 3 до 5 разных врачей. Вторая проблема возникает уже на этапе обследования, когда нередко выставляются ошибочные диагнозы, что еще больше способствует задержке установления диагноза [71]. Самый короткий путь к диагностике отмечается у пациентов с поражением почек (примерно 6 месяцев от момента появления симптомов), за счет рутинного использования биопсии почки у пациентов с протеинурией.

Диагноз системного AL-амилоидоза требует исключения у любого пациента при наличии сердечной недостаточности с сохранной фракцией выброса, протеинурии нефротического порядка, смешанной аксональной демиелинизирующей периферической нейропатии с вегетативными признаками или синдромом карпального канала, гепатомегалии без аномалий визуализации. Необходимо выполнить диагностический минимум – электрофорез белков сыворотки крови с иммунофиксацией, количественное определение свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови и их соотношение, электрофорез белков суточной мочи.

При выявлении моноклонального белка (парапротеина) показана биопсия подкожно-жировой клетчатки или поврежденного органа с окраской конго-красным с целью обнаружения амилоида в тканях [78,79]. В случае обнаружения амилоидных депозитов необходимо типирование амилоида, так как идентификация белка-предшественника имеет решающее значение для дальнейшей терапии. Золотым стандартом типирования амилоида является

протеомный анализ на основе масс-спектрометрии [80], однако, его доступность крайне ограничена (только в крупных центрах по изучению амилоидозов), поэтому наиболее распространены методы иммуногистохимии [81,82] и иммуноэлектронной микроскопии [83].

Всем пациентам с выявленным системным AL-амилоидозом необходимо выполнять исследование скелета для исключения множественной миеломы.

### Мониторинг пациентов с моноклональной гаммапатией неопределенного значения (МГНЗ) и тлеющей множественной миеломой

Поздняя диагностика AL-амилоидоза также распространена у пациентов с уже существующей МГНЗ, даже несмотря на появление симптомов, связанных с амилоидом [84]. Поскольку наиболее часто поражаемыми органами являются сердце и почки, маркеры повреждения этих органов должны быть частью скрининга. Определение уровня аминоконцевого фрагмента натрийуретического пептида типа В (NT-proBNP) в сыворотке позволяет со 100% чувствительностью диагностировать поражение сердца еще до развития симптомов [85,86]. Альбуминурия – маркер повреждения почек даже при сохранении уровня клубочковой фильтрации, позволяет обнаружить вовлечение почек на ранних стадиях, и тем самым предотвратить прогрессирование до терминальной хронической болезни почек [87]. Соответственно, оценка уровня NT-proBNP и альбуминурии должна быть интегрирована в регулярный скрининг пациентов с МГНЗ и тлеющей миеломой, этот подход может привести к обнаружению досимптомного системного амилоидоза, который можно эффективно лечить с получением хороших результатов [88].

### Стратификация риска

Выживаемость пациентов с системным AL-амилоидозом напрямую зависит от стадии поражения сердца (рисунок 3). Пациенты с продвинутой стадией поражения сердца имеют необратимые изменения, и медиана выживаемости составляет от 3–6 месяцев [89], в то время как пациенты без поражения сердца могут жить в течение многих лет, даже если они не отвечают на терапию первой линии. Поздняя диагностика поражения почек также отражается на выживаемости и риске прогрессирования до диализной стадии [87].

Есть несколько признанных систем стадирования системного AL-амилоидоза. Все они основаны на уровнях циркулирующих маркеров повреждения сердца и почек, а также В-клеточного клонального заболевания.

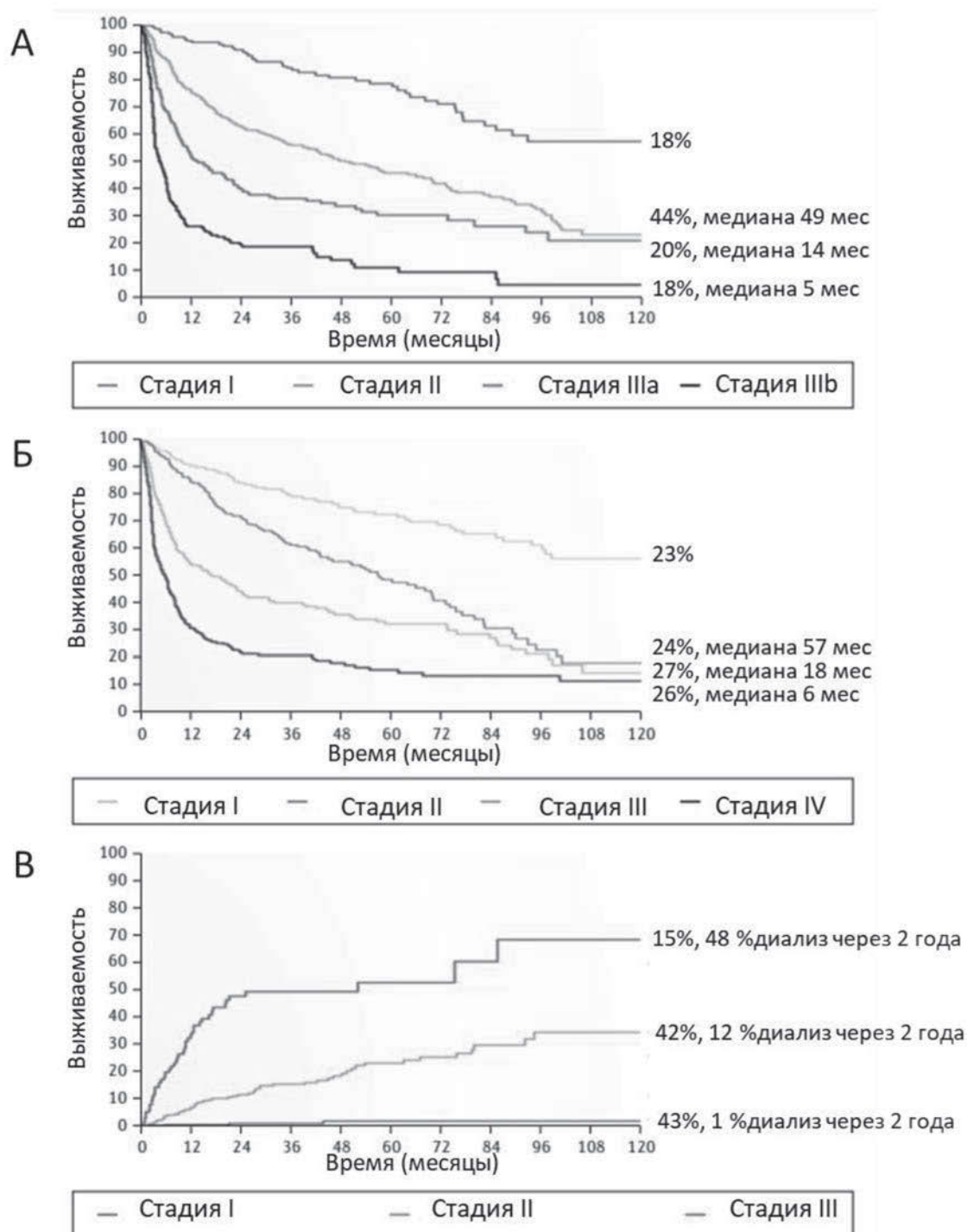


Рисунок. 3. Стратификация риска пациентов с AL-амилоидозом. Вероятность выживания 1065 пациентов с системным AL-амилоидозом, диагностированным в Исследовательском центре амилоидоза в г. Павии. Адаптировано: *Giampaolo Merlini et al. Nat Rev Dis Primers. 2018 Oct 25. - Vol. 4(1):38.*

Примечание. А. Система стадирования сердца основана на уровнях аминоконцевого фрагмента натрийуретического пептида типа В (NT-proBNP) (с пороговым уровнем 332 нг/л) и тропонина I (пороговый уровень 0,1 нг/мл). Стадии классифицируются как I, II или III на основании наличия 0, 1 или 2 повышенных маркеров соответственно. Тропонин Т можно использовать в системе вместо тропонина I с пороговым уровнем 0,06 нг/мл для стандартных тестов и 54 нг/л для высокочувствительных проб. Очень высокий уровень NT-proBNP (>8500 нг/л) выявляет пациентов с

выраженной сердечной дисфункцией (стадия IIIb), в то время как пациенты стадии III, у которых уровни NT-proBNP менее 8500 нг/л, имеют лучший результат (стадия IIIa).

Б. Пересмотренная система стадирования клиники Майо основана на уровне NT-proBNP (пороговый уровень 1800 нг/л), уровне тропонина I (пороговый уровень 0,07 нг/л) и разнице между вовлеченной и не вовлеченной циркулирующими свободными легкими цепями (рСЛЦ) (пороговый уровень 180 мг/л). Стадии классифицируются как I, II, III или IV на основании наличия 0, 1, 2 или 3 маркеров выше порога соответственно. Тропонин T может использоваться в системе вместо тропонина I с порогом на уровне 0,035 нг/мл.

В. Почечная система стадирования основана на протеинурии и расчетной скорости клубочковой фильтрации (рСКФ). Процент и цифры риска диализа для почечной стадии I, II и III стадии заболевания могут отличаться в зависимости от используемого метода лечения. Стадия I – протеинурия <5 г/24 ч и рСКФ >50 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, II стадия протеинурия > 5 г/24 ч, либо рСКФ <50 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> и III стадия - протеинурия > 5 г в сутки и рСКФ <50 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>.

Наиболее распространенной в использовании является система стадирования клиники Майо (Mayo Clinic), модифицированная европейскими исследователями для оценки степени тяжести поражения сердца (учитывает уровень NT-proBNP и сердечных тропонинов) [89–92].

В 2012 г. рабочая группа клиники Майо (Mayo Clinic) пересмотрела свою систему стадирования и добавила уровень разницы между вовлеченными и не вовлеченными свободными легкими цепями (граница 180 мг/л) [93,94].

Тяжесть поражения почек напрямую не влияет на выживаемость, однако влияет на сохранность почек и качество жизни и может влиять на выбор терапии, поэтому наряду с оценкой степени тяжести поражения сердца, в настоящее время необходимо также выполнять стадирование поражения почек [87,95].

## Терапия

### Цели лечения, оценка и мониторинг ответа на лечение

Основная цель терапии пациентов с системным AL амилоидозом – увеличение продолжительности жизни и улучшение функции органов. Эти цели могут быть достигнуты только при подавлении или полной остановке синтеза амилоидогенных легких цепей [96]. Источником амилоидогенных легких цепей является клон плазматических клеток, сходный с множественной миеломой [97–101]. Таким образом, большинство терапевтических опций, используемых в настоящее время для лечения AL-амилоидоза, обладают доказанной эффективностью при лечении множественной миеломы [102]. Международное общество амилоидоза (ISA) опубликовало критерии ответа для AL амилоидоза [103] (таблица 2).

Таблица 2

Критерии ответа на терапию

Ответ	Исходная характеристика	Критерий	Прогрессирование
Гематологический	рСЛЦ > 50 мг/л	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Полный ответ: отрицательная иммунофиксация сыворотки и мочи и нормальное соотношение СЛЦ</li> <li>• Очень хороший частичный ответ: рСЛЦ &lt;40 мг/л</li> <li>• Частичный ответ: рСЛЦ снижается &gt; на 50% по сравнению с базовым уровнем</li> </ul>	
	рСЛЦ 20–50 мг/л	Ответ с низкой рСЛЦ: рСЛЦ <10 мг/л	
Сердечный	NT-proBNP > 650 нг/л	Снижение NT-proBNP >30% и >300 нг/л по сравнению с исходным уровнем	Повышение NT-proBNP >30% и >300 нг/л или повышение тропонина на 33% или снижение фракции выброса ФВ ≥10%
	NYHA класс 3 или 4	Ответ класса NYHA (уменьшение ≥2 класса от исходного уровня)	
Почечный	Протеинурия >0,5 г в сутки (преимущественно альбумин)	Снижение суточной протеинурии более чем на 30% по сравнению с исходным уровнем (или составляет <0,5 г/24 ч при отсутствии снижения рСКФ >25%)	25% ухудшение расчетной рСКФ

Печеночный		50% снижение аномального значения щелочной фосфатазы Уменьшение радиографических размеров печени не менее 2 см	50% увеличение щелочной фосфатазы выше самого низкого значения
Периферическая нервная система		Улучшение скорости проводимости нерва на электромиограмме (редко)	Прогрессирующая нейропатия по данным электромиографии или скорости нервной проводимости

Ответ при AL-амилоидозе включает оценку прямого действия химиотерапии на клон (гематологический ответ) и косвенного эффекта улучшения функции органов («ответ органа»), а также достигнутой глубины гематологического ответа. Чем глубже гематологический ответ, тем выше вероятность органного ответа, однако может быть несоответствие между гематологическим ответом и органами ответами. Текущие критерии определяют ответ органов бинарным образом (ответ/отсутствие ответа).

В то время как органной ответ является целью лечения и, поскольку ни один из доступных агентов не может влиять на него напрямую, достижение очень хорошего частичного гематологического ответа (ОХЧО) раньше считалось «целью» лечения AL-амилоидоза. Текущие критерии ISA показывают, что достижение полного ответа (ПО) связано с лучшими исходами [104], а в последнее время исследования показали, что достижение очень низких уровней свободных легких цепей после лечения (разница между вовлеченными и не вовлеченными легкими цепями (pСЛЦ)) или низкого уровня вовлеченной свободной легкой цепи (вСЛЦ)) также предсказывает лучшие результаты [105–108]. Поэтому в настоящее время достижение полного гематологического ответа является целью лечения AL-амилоидоза, в идеале с достаточным снижением вСЛЦ (<20 мг/л) или pСЛЦ (<10 мг/л).

Гематологический ответ следует оценивать не реже одного раза в месяц, модификация лечения рассматривается, если пациент не достигает частичного ответа (ЧО) после 2 циклов или ОХЧО после 3 циклов и отсутствует реакция органов [109].

#### Лечение пациентов с впервые выявленным AL-амилоидозом

Лечение AL-амилоидоза адаптировано к риску. Выбор режима, агента и интенсивности зависит от степени поражения органов, функционального статуса, возраста, количества плазматических клеток в костном мозге и цитогенетических поломок. Основное решение заключается в том, является ли пациент кандидатом на трансплантацию аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) в рамках индукционной терапии или комбинированную терапию без ауто-ТГСК.

Критерии приемлемости для ауто-ТГСК разли-

чаются среди трансплантационных центров в зависимости от опыта и внутренних стандартов [110], однако только 20–30% (или меньше) пациентов с впервые выявленным диагнозом являются кандидатами на интенсивное лечение. «Отсроченное» право на ауто-ТГСК достижимо, если функции органов значительно улучшаются после индукционной химиотерапии.

#### Широкие критерии кандидата для ауто-ТГСК при AL-амилоидозе [111]:

- Подтвержденный тканевой биопсией и точным типированием диагноз AL-амилоидоза
- Явные доказательства дискразии клональных плазматических клеток
- Возраст >18 лет и <70 лет
- Поражение хотя бы одного крупного жизненно важного органа (поражение мягких тканей само по себе или отложение амилоида только в костном мозге не считаются поражением жизненно важных органов)
- Фракция выброса левого желудочка  $\geq 40\%$ , класс NYHA <III
- Диффузионная способность легких >50%
- Систолическое артериальное давление в положении лежа >90 мм рт.ст.
- Оценка состояния по ECOG  $\geq 2$
- Прямой билирубин <2 мг/дл
- NTproBNP <5000 пг/мл
- Тропонин I <0,1 нг/мл и тропонин T <60 нг/л и hs-тропонин T <75 нг/мл
- pСКФ >30 мл/мин/м<sup>2</sup>

#### Критерии исключения [111]:

- Симптоматические и/или фармакорезистентные желудочковые и предсердные аритмии
- Симптоматические и/или медикаментозно-рефрактерные плевральные выпоты
- Некомпенсированная сердечная недостаточность
- Ортостатическая гипотензия, рефрактерная к медикаментозной терапии
- Дефицит фактора X с уровнем фактора X <25% и/или признаки активного кровотечения
- Обширное поражение желудочно-кишечного тракта с признаками активного желудочно-кишечного кровотечения или риск кровотечения.

В настоящее время, с внедрением в терапию

моноклональных антител к CD38, место ауто-ТГСК оспаривается, поэтому пациентам с хорошим гематологическим ответом на индукционную терапию ауто-ТГСК может не понадобиться [111, 112].

Для пациентов, которым противопоказана ауто-ТГСК, и для тех, кто отказывается от процедуры, антиклоновая химиотерапия является единственным вариантом [113].

В соответствии с рекомендациями ISA, в качестве терапии первой линии, рекомендована комбинация циклофосамида, бортезомиба, дексаметазона (CyBorD) и даратумумаба для пациентов с недавно диагностированным AL-амилоидозом [114]. Циклофосфамид – это алкилирующий агент, вызывающий повреждение нитей ДНК, что приводит к апоптозу клетки [115]. Бортезомиб является ингибитором протеасом [116]. Протеасомы представляют собой многосубъединичные ферментные комплексы, обнаруженные в клетке в большом количестве и участвующие в снижении токсичности белков и регулировании белков, которые контролируют ход клеточного цикла и апоптоз [117,118]. Ингибирование каталитического ядра протеасом приводит к накоплению убиквитинированных белков и клеточному апоптозу [116]. Плазматические клетки, генерирующие амилоидогенные легкие цепи, особенно чувствительны к ингибированию протеасом, поскольку они используют протеасомы для снижения токсического действия амилоидогенных легких цепей и предотвращения апоптоза [119]. Дексаметазон индуцирует клеточный апоптоз через ядерный глюкокортикоидный рецептор [120]. Однако использование дексаметазона связано с повышенным риском внезапной сердечной смерти и нарушений ритма сердца среди пациентов с тяжелым системным AL-амилоидозом (стадия IIIb согласно Европейской модификации системы стадирования Mayo 2004) [121,122]. Поэтому все пациенты с высоким риском, например, на стадиях IIIb и IV, получающие химиотерапию, должны подвергаться тщательному мониторингу [123,124].

Даратумумаб представляет собой моноклональное антитело, которое связывается с CD38, трансмембранным гликопротеином, экспрессируемым на поверхности плазматических клеток, вызывая апоптоз плазматических клеток [125]. Это первый и единственный препарат, специально одобренный для лечения AL-амилоидоза (в РФ препарат зарегистрирован в комбинации с циклофосфамидом, бортезомибом и дексаметазоном для терапии взрослых пациентов с впервые диагностированным амилоидозом легких цепей в марте 2023 г.). Эффективность Dara-CyBorD очень высока. В 2021 г. опубликованы данные крупнейшего рандомизированного контролируемого исследования (ANDROMEDA) по AL-амилоидозу с участием 388 пациентов [126]. Пациентам с недавно диагностированным AL-амилоидозом случайным образом назначали дара-

тумумаб в сочетании с CyBorD (исследуемая группа, n=195) или CyBorD (контрольная группа, n=193). CyBorD назначался в течение 6 циклов в каждой группе и даратумумаб по стандартной схеме до 24 циклов. Пациенты со стадией Mayo 3b были исключены. Частота полных и общих ответов составила 53,3 против 18,1% и 91,8 против 76,7% для Dara-CyBorD и CyBorD (p <0,001) соответственно.

В отсутствие доступа к даратумумабу в первой линии приемлемой терапией для пациентов, которым не показана трансплантация, является CyBorD или бортезомиб, мелфалан и дексаметазон (BMDex).

В рандомизированном исследовании, сравнивающим BMDex (n=53) с MDex (n=56), в группе BMDex была достигнута более высокая частота общих ответов (79% против 52%), глубоких ответов (64% против 39%) и более длительная выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость по сравнению с группой MDex [127].

Бортезомиб следует вводить подкожно один раз в неделю в начальной дозе от 1,3 до 1,6 мг/м<sup>2</sup>, однако для пациентов с тяжелым поражением сердца (IIIa, IIIb) необходима редукция дозы с постепенным титрованием по переносимости (0,7–1,0 мг/м<sup>2</sup>). У пациентов с нейропатией следует избегать применения бортезомиба во избежание усугубления тяжести нейропатии.

Иммуномодуляторы могут быть полезны при лечении AL-амилоидоза, однако гематологические ответы развиваются медленно. Леналидомид плохо переносится пациентами с AL-амилоидозом при полной суточной дозе 25 мг, и всем пациентам следует начинать со значительного снижения дозы (стартовая доза 5 мг, повышение дозы в зависимости от переносимости, максимальная рекомендуемая доза 15 мг). При комбинировании с мелфаланом/дексаметазоном или циклофосфамидом/дексаметазоном для впервые выявленного AL-амилоидоза в дозе 15 мг в день или ниже частота гематологического ответа составила 46–60%, но с низкой частотой полного ответа [128–130]. Общие токсические эффекты, связанные с леналидомидом у пациентов с AL-амилоидозом, включают кожную сыпь, тромботические осложнения, инфекции, утомляемость и ухудшение функции почек. Помалидомид имеет более безопасный почечный профиль и, возможно, лучше переносится пациентами с AL-амилоидозом по сравнению с леналидомидом [131,132]. Использование иммуномодуляторов сопряжено с повышением NT-proBNP, которое часто носит временный характер, не говорит о прогрессировании, но может сделать затруднительной оценку сердечного ответа.

### **Поддерживающая терапия [114]**

В настоящее время нет убедительных данных о необходимости назначения поддерживающей терапии у пациентов с AL-амилоидозом, однако, это может принести пользу пациентам в неполном гематологическом ответе.

### Особые группы пациентов

Пациенты с высоким риском составляют ~ 20%. Основные проблемы с терапией связаны с продвинутой стадией поражения сердца (IIIb) и тяжелой сердечной недостаточностью (NYHA класс III или класс IV), что ограничивает выбор терапевтических опций.

Одной только антиклоновой терапии может быть недостаточно для таких пациентов, даже при быстром гематологическом ответе, поскольку ранняя смертность может достигать 50% после начала терапии [133]. Немедленное начало лечения имеет решающее значение. Для снижения риска внезапной сердечной смерти и фатальных нарушений ритма сердца рекомендуется снижение дозы бортезомиба и дексаметазона или последовательное введение препаратов в режим терапии [134]. Даратумумаб, если он доступен, рекомендован в качестве предпочтительного варианта терапии. Предварительные данные продолжающегося европейского исследования фазы II применения монотерапии даратумумабом демонстрируют ранние и глубокие гематологические ответы и улучшение выживаемости [135]. Внутривенно даратумумаб можно вводить в несколько приемов для уменьшения объема жидкости. Необходим тщательный мониторинг и рекомендуется стационарное лечение.

### Больные с нейропатией [114]

Для пациентов с легкой нейропатией возможно использовать бортезомиб в сниженной дозировке. Предпочтительным является даратумумаб в дополнение к бортезомибу или в качестве монотерапии, если он доступен. Пациентам с тяжелой нейропатией (автономной) следует избегать бортезомиба в качестве первой линии, режимы на основе леналидомида, с осторожностью один раз в неделю.

В случае отсутствия продвинутых стадий поражения сердца можно использовать режим карфилзомиб-дексаметазон.

Роль иксазомиба у пациентов с нейропатией еще не определена, но в отдельных случаях ее можно рассматривать с осторожностью.

При отсутствии других вариантов у пациентов, не достигших гематологического ответа, можно с осторожностью назначать бортезомиб при тщательном наблюдении за нейропатией.

### Пациенты с кровотечением [114]

Для этих пациентов следует использовать стандартную терапию с тщательным наблюдением, чтобы избежать тромбоцитопении, которая может увеличить риск больших, клинически значимых кровотечений. Может быть рассмотрена заместительная терапия факторами свертывания крови, плазмой. У пациентов с дефицитом фактора X и опасным для жизни кровотечением может играть роль активированный фактор VIIa. Назначение иммуномодуляторов с большой осторожностью.

### Пациенты с прогрессирующей дисфункцией

### печени [114]

Пациенты с высоким уровнем билирубина имеют особенно неблагоприятный прогноз при отсутствии глубокого гематологического ответа и с трудом поддаются лечению, поскольку многие препараты, подвергаясь метаболизму в печени, требуют существенной коррекции дозы. Модификация дозы бортезомиба при дисфункции печени остается малоизученной, он не считается гепатотоксическим препаратом, однако, рекомендуется тщательный мониторинг. Циклофосфамид метаболизируется и активируется в печени, но его метаболиты также могут вызывать гепатотоксичность. Даратумумаб не тестировался у пациентов с дисфункцией печени, и данные о потенциальной гепатотоксичности ограничены, хотя он считается маловероятной причиной клинически очевидного повреждения печени. Леналидомид был связан с редкими случаями тяжелой гепатотоксичности, хотя легкий трансаминалит не редкость. Даратумумаб со стероидами может быть предпочтительнее, учитывая низкий потенциал гепатотоксичности, но данные ограничены.

### Пациенты, нуждающиеся в диализе [114]

Нахождение на диализе само по себе не является показанием к выбору конкретного режима, но все используемые препараты требуют изменения дозы. Бортезомиб обычно не требует коррекции дозы, но его следует вводить после диализа. Мелфалан требует коррекции дозы и может быть связан с непредсказуемой гематологической токсичностью у пациентов с тяжелой почечной дисфункцией. Среди иммуномодуляторов только леналидомид требует модификации дозы в соответствии с рСКФ. Даратумумаб можно безопасно назначать пациентам с тяжелой почечной дисфункцией или тем, кто находится на диализе. Ретроспективные данные по рецидивирующему/рефрактерному AL-амилоидозу позволяют предположить, что у пациентов с тяжелой протеинурией даратумумаб может быть менее эффективным из-за потери с мочой [136].

### IgM-ассоциированный амилоидоз [114]

В большинстве случаев причиной IgM-ассоциированного амилоидоза является В-клеточный клон (неходжкинская лимфома (НХЛ)), а не клональное заболевание плазматических клеток, однако у части пациентов это может быть плазмоклеточная дискразия. В исследовании 70 пациентов с IgM-амилоидозом было показано, что у 16 (23%) были настоящие плазматические новообразования с t(11;14) в 60% случаев, в то время как у большинства пациентов с лимфоплазмочитарным клоном были мутации MYD-88 (что говорит в пользу макроглобулинемии Вальденстрема) [137]. Схемы, разработанные для НХЛ/макроглобулинемии Вальденстрема (MB), нацеленные на зрелые В-клетки, предпочтительны для пациентов с лимфоплазмочитарным новообразованием. Схемы на основе ритуксимаба являются основой терапии.

Ритуксимаб с бендамустином широко используется при лечении IgM-AL [138,139]. Ответы на ибрутиниб довольно скромные, ограниченный опыт лечения AL-амилоидоза свидетельствует о возможной кардиотоксичности и плохой переносимости [140]. Связанный с IgM амилоидоз считается одним из показаний к ауто-ТГСК из-за плохого ответа на стандартное лечение и ограниченных вариантов лечения (по сравнению с не-IgM AL-амилоидозом) в рецидиве. Имеются ограниченные данные о режимах кондиционирования для ауто-ТГСК, но рассмотрение возможности использования ВЕАМ (BCNU, этопозид, цитарабин, мелфалан) у более молодых здоровых пациентов с лимфоплазматическими клонами может быть оправдано.

### Лечение рецидива

Существует множество потенциальных вариантов лечения рецидива системного AL-амилоидоза: ингибиторы протеасом, моноклональные антитела, иммуномодулирующая терапия, венетоклак, бендамустин и высокие дозы мелфалана с ауто-ТГСК. Руководящими принципами выбора терапии являются глубина и продолжительность начального ответа, использование класса агентов, ранее не подвергавшихся воздействию, а также ограничения вследствие физического состояния/слабости пациента и поражения конечного органа. Например, пролонгированный ответ на схему на основе бортезомиба (без нейропатии) будет стимулировать повторное лечение, в идеале с другим партнером для комбинации. У пациентов, ранее не получавших даратумумаб, может быть предпочтительнее режим, основанный на даратумумабе.

### Ингибиторы BCL2 (ген В-клеточной лимфомы 2)

У пациентов с транслокацией t(11;14), которая отмечается примерно у 50% пациентов с AL-амилоидозом, имеется зависимость плазматических клеток от конститутивной активации

клеточных процессов, связанных с активацией циклина D1 [141]. Результирующее ингибирование BCL2 с помощью ингибиторов BCL2 устраняет антиапоптотические защитные механизмы, ведущие к преимущественной гибели пораженных клеток. Следовательно, препараты, нацеленные на путь BCL2, представляют интерес при AL-амилоидозе. Венетоклак является наиболее изученным препаратом, и опыт лечения множественной миеломы свидетельствует о том, что этот препарат обладает значительной активностью у пациентов с миеломой, имеющей транслокацию t(11;14) [142]. Основываясь на данных клинических испытаний при множественной миеломе, это соединение обладает моноактивностью, но также работает в комбинации с бортезомибом и даратумумабом. Ретроспективные данные об использовании венетоклакса при AL-амилоидозе демонстрируют глубокие ответы, и он хорошо переносится даже у ослабленных пациентов [143]. Проспективных данных о дозировании венетоклакса при AL-амилоидозе нет, следовательно, важно начинать с низкой дозы и осторожно увеличивать ее в зависимости от толерантности.

### Заключение

Терапия пациентов с системным AL-амилоидозом, особенно в продвинутых стадиях – настоящий вызов для гематолога. Трудности диагностики, разнообразие клинической картины, поражение сразу нескольких органов осложняют работу врача. Поскольку все рекомендации основываются на небольших исследованиях II фазы, а опыт отдельных центров крайне незначительный, для достижения хороших результатов необходима кооперативная работа, с обсуждением каждого конкретного случая с более опытными коллегами, а также распространение знаний об AL-амилоидозе среди врачей других специальностей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Merlini G., Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. // N. Engl. J. Med. – 2003. – Vol. 349. – P. 583–596.
2. Dasari S., Theis J.D., Vrana J.A. et al. Amyloid typing by mass spectrometry in clinical practice: a comprehensive review of 16,175 samples. // Mayo Clin Proc. – 2020. Vol. 95. – P. 1852-1864.
3. Wainwright J. An Anatomical Treatise of the Liver: With the Diseases Incident to It. By a Member of the College of Physicians. – 1722. – P. 29–30.
4. Rokitsansky, C. Handbuch der Speciellen Pathologischen Anatomica. – 1842. – P. 311 – 312.
5. Budd G. On diseases of the liver, 1st edn. London: John Churchill. – 1845. – P. 243.
6. Budd G. On diseases of the liver, 3rd edn. London: John Churchill. – 1857. –P. 312–336.
7. Gairdner W. T., Drummond J. On Some Points in the Pathology of the Liver. // Mon J Med Sci. – 1854 – Vol. 9, N 53. – P. 393–399.
8. Schleiden J. M. Scientific botany. First book: chemistry of Plants. - 1842. - P9.
9. Virchow R. Lecture XVII. Amyloid degeneration. Inflammation. // Cellular Pathology as Based Upon Physiological and Pathological Histology. – 1971. – P. 409 – 437.
10. Kyle R. A. Amyloidosis: a convoluted story. // Br J Haematol. – 2001. – Vol. 114, N 3. – P. 529-538.
11. Sipe J. D. Cohen AS. Review: history of the amyloid fibril. // J Struct Biol. – 2000. Vol. 130, N 2-3. – P. 88-98.
12. Wilks S. Cases of lardaceous disease and some allied affections. With remarks. // Guy's Hospital Reports. – 1856. - Vol. 2. – P. 103 – 132.



13. Wilks S. Report on lardaceous disease. // *Guy's Hospital Reports*. – 1865. Vol. 11. P. 45 – 55.
14. Weber H. Mollities ossium, doubtful whether carcinomatous or syphilitic. // *Transactions of the Pathological Society of London*. – 1867. – Vol. 18. – P. 206 – 210.
15. Hodkinson H.M, Pomerance A. The clinical significance of senile cardiac amyloidosis: a prospective clinico-pathological study. // *Q J Med*. – 1977. – Vol. 46, N 183. – P. 381 – 387.
16. Bennhold H. Specific staining of amyloid by Congo red. // *Münchener Medizinische Wochenschrift*. – 1922. – Vol 69. – 1537–1538.
17. Divry P, Florin M. Sur les propriétés optiques de l'amyloïde. // *CR Société de Biologie*. – 1927. – Vol. 97. –P. 1808 – 1810.
18. Lubarsch O. Zur Kenntnis ungewöhnlicher Amyloidablagerungen. // *Arch. path. Anat.* – 1929. – Vol. 271. – P. 867-889.
19. Dahlin D. C.: Primary Amyloidosis, With Report of 6 Cases. // *Am. J. Path.* – 1949. –Vol. 25. – P. 105 – 124.
20. Magnus-Levy A.: Bence-Jones-Eiweiss und Amyloid. // *Ztschr. klin. Med.* – 1931. Vol. 116. – P. 510-531.
21. Magnus-Levy A.: Multiple Myelome. VII. Euglobulinämie. Zur Klinik und Pathologie, Amyloidosis. // *Z. klin. Med.* – 1934. – Vol.126. – P. 62.
22. Magnus-Levy A.: Multiple Myeloma: Etwas vom Eiweisshaushalt der Geschwülste des Knochenmarks, von Nephrosen und vom Amyloid. // *Deutsche med. Wchnschr.* – 1931. -Vol. 57. – P. 703-706.
23. Magnus-Levy A. Multiple myelome. // *Acta Medica Scandinavica*. – 1938. – Vol. 95. – P. 217 – 280.
24. Magnus-Levy A. Amyloidosis in multiple myeloma. Progress noted in 50 years of personal observation. // *Journal of the Mount Sinai Hospital*. – 1952. Vol. 19. – P 8 – 9.
25. Atkinson F. R. B. Multiple Myelomata. // *M. Press*. – 1937. – Vol.195. – P. 312-317.
26. Apitz K. Die Paraproteinosen (Über die Störung des Eiweissstoffwechsels bei Plasmocytom). // *Virchows Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie (B)*. – 1940. – Vol. 306. – P. 631 – 639.
27. Cohen A.S., Calkins E. Electron microscopic observations on a fibrous component in amyloid of diverse origins. // *Nature*. – 1959. – Vol. 183. – P. 1202 – 1203.
28. Cohen A.S., Calkins E. The Isolation of Amyloid Fibrils and a Study of the Effect of Collagenase and Hyaluronidase. // *J Cell Biol*. – 1964. – Vol. 21. – P. 481 - 486.
29. Kyle R.A., Bayrd E.D. Primary systemic amyloidosis and myeloma: discussion of relationship and review of 81 cases. // *Archives of Internal Medicine*. – 1961. – Vol. 107. P. 344 – 353.
30. Eanes E.D., Glenner G.G. X-ray diffraction studies on amyloid filaments. // *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. – 1968. – Vol. 16. P. 673 – 677.
31. Glenner G.G., Terry W., Harada, M. et al. Amyloid fibril proteins: proof of homology with immunoglobulin light chains by sequence analyses. // *Science*. 1971a. – Vol. 172. – P. 1150 – 1151.
32. Glenner G.G., Ein D., Eanes, E.D. et al. Creation of 'amyloid' fibrils from Bence Jones protein in vitro. // *Science*. – 1971b. – Vol. 174. – P 712 –714.
33. Kyle R.A, Bayrd E.D. Amyloidosis: review of 236 cases. // *Medicine*. – 1975. – Vol. 54. – Vol. 271 – 299.
34. Kyle R.A, Greipp P.R. Amyloidosis (AL): clinical and laboratory features in 229 cases. // *Mayo Clin Proc*. – 1983. – Vol. 58. – P. 665 - 683.
35. Kyle R.A, Gertz M.A. Primary systemic amyloidosis: clinical and laboratory features in 474 cases. // *Semin Hematol*. – 1995. – Vol. 32. – P. 45-59.
36. Cohen A.S, Rubinow A., Anderson J.J. et al. Survival of patients with primary (AL) amyloidosis: colchicine-treated cases from 1976 to 1983 compared with cases seen in previous years (1961 to 1973). // *Am J Med*. – 1987. – Vol. 82. – P. 1182-1190.
37. Kyle R.A, Greipp P.R. Primary systemic amyloidosis: comparison of melphalan and prednisone versus placebo. // *Blood*. – 1978. – Vol. 52. – P. 818-827
38. Kyle R.A., Gertz M.A., Greipp P.R. et al. A trial of three regimens for primary amyloidosis: colchicine alone, melphalan and prednisone, and melphalan, prednisone and colchicine. // *New England Journal of Medicine*. – 1997. – Vol. 336. – P. 1202 – 1207.
39. Comenzo R.L, Vosburgh E, Falk R.H. et al. Dose-intensive melphalan with blood stem-cell support for the treatment of AL (amyloid light-chain) amyloidosis: survival and responses in 25 patients. // *Blood*. – 1998. – Vol. 91, N 10. – P. 3662-3670.
40. Iadanza M.J., Jackson M.P., Eric W Hewitt et al. A new era for understanding amyloid structures and disease. // *Nat Rev Mol Cell Biol*. – 2018. Vol. 12. – P. 755-773.
41. Sipe J. D., Benson M.D., Buxbaum J.N. et al. Amyloid fibril proteins and amyloidosis: chemical identification and clinical classification International Society of Amyloidosis 2016 Nomenclature Guidelines. // *Amyloid*. – 2016. – Vol. 23. – P. 209-213.
42. Kourelis T. V., Kyle R.K., Dingli D. et al. Presentation and outcomes of localized immunoglobulin light chain amyloidosis: the Mayo Clinic experience. // *Mayo Clin. Proc*. – 2017. – Vol. 92. – P. 908-917.
43. Dobson C.M. Protein Folding and Misfolding. // *Nature*. – 2003. Vol. 426. P. 884-890.
44. Khurana R., Gillespie J.R., Talapatra A. et al. Partially Folded Intermediates as Critical Precursors of Light Chain Amyloid Fibrils and Amorphous Aggregates. // *Biochemistry*. – 2001. – Vol. 40. – P. 3525 – 3535.
45. Yerbury J. J., Ooi L., Dillin A. et al. Walking the tightrope: proteostasis and neurodegenerative disease. // *J. Neurochem*. – 2016. – Vol. 137. – P. 489-505.
46. Labbadia J., Morimoto R. I. The biology of proteostasis in aging and disease. // *Annu. Rev. Biochem*. – 2015. – Vol.84. – P 435-

- 464.
47. Wickner S., Maurizi M.R., Gottesman S. Posttranslational Quality Control: Folding, Refolding, and Degrading Proteins. // *Science*. - 1999. - Vol. 286. - P. 1888 - 1893.
  48. Merlini G., Bellotti V. Molecular Mechanisms of Amyloidosis. // *N. Engl. J. Med.* - 2003. - Vol. 349. - P. 583 - 596.
  49. Merlini G., Stone M. J. Dangerous small B cell clones. // *Blood*. - 2006. - Vol. 108. - P. 2520 - 2530.
  50. Bochtler T., Hegenbart U., Heisset C. et al. Hyperdiploidy is less frequent in AL amyloidosis compared with monoclonal gammopathy of undetermined significance and inversely associated with translocation t(11. - Vol. 14). // *Blood*. - Vol. 117. - P. 3809 - 3815.
  51. Morgan G. J., Kelly J. W. The kinetic stability of a full-length antibody light chain dimer determines whether endoproteolysis can release amyloidogenic variable domains. // *J. Mol. Biol.* - 2016. - Vol. 428. - P. 4280 - 4297.
  52. Blancas-Mejia L. M. et al. Thermodynamic and fibril formation studies of full length immunoglobulin light chain AL-09 and its germline protein using scan rate dependent thermal unfolding. *Biophys. // Chem.* - 2015. - Vol. 207. - P. 13 - 20.
  53. Oberti L. et al. Concurrent structural and biophysical traits link with immunoglobulin light chains amyloid propensity. *Sci. Rep.* - 2017. - Vol. 7. - P.16809.
  54. Westermark G. T., Fandrich M., Lundmark K., Westermark P. Noncerebral amyloidoses: aspects on seeding, cross-seeding, and transmission. // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* - 2018. - Vol. 8. - P. 024323.
  55. Bourne P. C., Ramsland P.A., Shan L. et al. Three-dimensional structure of an immunoglobulin light-chain dimer with amyloidogenic properties. // *Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr.* - 2002. - Vol. 58. - P. 815 - 823.
  56. Oberti L., Rognoni P., Barbiroli A. et al. Concurrent structural and biophysical traits link with immunoglobulin light chains amyloid propensity. // *Sci Rep.* - 2017. - Vol. 7. - P. 1 - 11.
  57. Kazman P., Vielberg M.T., Cendales M.D.P., et al. Fatal amyloid formation in a patient's antibody light chain is caused by a single point mutation. // *Elife.* - 2020. - Vol. 9. - P. 1 - 23.
  58. Lavatelli F., Perlman D.H., Spencer B., et al. Amyloidogenic and associated proteins in systemic amyloidosis proteome of adipose tissue. // *Mol Cell Proteomics.* - 2008. - Vol. 7. - P. 1570-1583.
  59. Lavatelli F., Mazzini G., Ricagno S, et al. Mass spectrometry characterization of light chain fragmentation sites in cardiac AL amyloidosis:insights into the timing of proteolysis. // *J Biol Chem.* - 2020. - Vol. 295. - P. 16572-16584.
  60. Buxbaum J.N., Chuba J.V., Hellman G.C., Solomon A, Gallo G.R. Monoclonal immunoglobulin deposition disease: light chain and light and heavy chain deposition diseases and their relation to light chain amyloidosis. Clinical features, immunopathology, and molecular analysis. *Ann Intern Med.* 1990. - Vol. 112:455-64.
  61. Enqvist S, Sletten K, Westermark P. Fibril protein fragmentation pattern in systemic AL-amyloidosis. *J Pathol.* 2009. - Vol. 219. - P. 473-480.
  62. Ferrone F. Analysis of protein aggregation kinetics. // *Methods Enzymol.* - 1999. Vol. 309. -P. 256-274.
  63. Glabe C. G., Kaye, R. Common structure and toxic function of amyloid oligomers implies a common mechanism of pathogenesis. // *Neurology.* -2006. - Vol.66. - P. 74-78.
  64. Ami D., Lavatelli F., Rognoni P. et al. In situ characterization of protein aggregates in human tissues affected by light chain amyloidosis: a FTIR microspectroscopy study. // *Sci. Rep.* - 2016. -P. 29096.
  65. Diomede L., Romeo M., Rognoni P. et al. Cardiac light chain amyloidosis: the role of metal ions in oxidative stress and mitochondrial damage. // *Antioxid. Redox Signal.* 2017. - Vol. 27. - P. 567-582.
  66. Marin-Argany M., Lin Y., Misra P. et al. Cell damage in light chain amyloidosis: fibril internalization, toxicity and cell-mediated seeding. // *J. Biol. Chem.* - 2016. - Vol. 291. - P. 19813-19825.
  67. Merlini G., Dispenzieri A., Sancharawala V. et al. Systemic immunoglobulin light chain amyloidosis. // *Nature Reviews Disease Primers.* -2018. - Vol. 4. P. 38.
  68. Naiki H., Gejyo F. *Methods in Enzymology.*// Academic Press. -1999.- Vol. - P. 305-318.
  69. Nystrom S. N., Westermark G. T. AA-amyloid is cleared by endogenous immunological mechanisms. // *Amyloid.* -2012. - Vol. 19. - P. 138-145.
  70. Pepys M. B. Amyloidosis. // *Annu. Rev. -Med.* Vol. 57. -- P. 223-241.
  71. McCausland K.L., White M.K., Guthrie S.D. et al. Light chain (AL) amyloidosis: the journey to diagnosis. // *Patient.* - 2018. - Vol. 11.- P. 207-216.
  72. Muchtar E., Dispenzieri A., Gertz M., Kumar S. et al. Treatment of AL Amyloidosis: Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) Consensus Statement 2020 Update. // *Mayo Clin Proc.* 2021 Jun. - Vol. 96(6).- P.1546-1577.
  73. Gertz M.A., Comenzo R., Falk R.H. et al. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, 18-22 April 2004. *Am J Hematol.* - 2005. - Vol. 79.- P. 319-328
  74. Muchtar E., Gertz M.A., Kyle R.A. et al. A modern primer on light chain amyloidosis in 592 patients with mass spectrometry-verified typing. // *Mayo Clin Proc.* - 2019. - Vol. 94.- P. 472-483.
  75. Kourelis T. V., Dasari S., Theis J. et al. Clarifying immunoglobulin gene usage in systemic and localized immunoglobulin light-chain amyloidosis by mass spectrometry. // *Blood.* - 2017. - Vol. 129. - P. 299-306.
  76. Comenzo R. L., Zhang Y., Martinez C., Osman, K., Herrera G. A. The tropism of organ involvement in primary systemic amyloidosis:

- contributions of Ig V-L germ line gene use and clonal plasma cell burden. // *Blood*. - 2001. - Vol. 98. P. 714–720.
77. Perfetti V, Palladini G, Casarini S. et al. The repertoire of lambda light chains causing predominant amyloid heart involvement and identification of a preferentially involved germline gene, IGLV1-44. *Blood*. - 2012. - Vol. 119. P. 144–150.
  78. Quarta C.C., Gonzalez-Lopez E., Gilbertson J.A. et al. Diagnostic sensitivity of abdominal fat aspiration in cardiac amyloidosis. // *Eur. Heart J.* - 2017. -Vol. 38. - P. 1905–1908.
  79. Muchtar E., Dispenzieri A., Lacy M. et al. Overuse of organ biopsies in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): the consequence of failure of early recognition. // *Ann. Med.* - 2017. - Vol. 49. - P. 545–551.
  80. Vrana J. A., Theis J.D., Dasari S. et al. Clinical diagnosis and typing of systemic amyloidosis in subcutaneous fat aspirates by mass spectrometry-based proteomics. // *Haematologica*. - 2014. - Vol. 99. - P. 1239-1247.
  81. Schonland, S. O., Hegenbart U., Bochtler T et al. Immunohistochemistry in the classification of systemic forms of amyloidosis: a systematic investigation of 117 patients. // *Blood*. 2012. - Vol.119. P. 488–493.
  82. Linke R. On typing amyloidosis using immunohistochemistry. Detailed illustrations, review and a note on mass spectrometry. // *Prog. Histochem. Cytochem.* - 2012. - Vol. 47. P. 61–132.
  83. Fernandez de Larrea C., Verga L., Morbini P. et al. A practical approach to the diagnosis of systemic amyloidoses. // *Blood*. - 2015. - Vol. 125. - P. 2239–2244.
  84. Kourelis T.V., Kumar S.K., Go R.S. et al. Immunoglobulin light chain amyloidosis is diagnosed late in patients with preexisting plasma cell dyscrasias. // *Am. J. Hematol.* - 2014. - Vol. 89. - P.1051–1054.
  85. Palladini G., Campana C., Klersy C. et al. Serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a sensitive marker of myocardial dysfunction in AL amyloidosis. // *Circulation*. - 2003. - Vol.107. - P. 2440–2445. This study introduces NT-proBNP as a sensitive marker for the diagnosis and follow-up after therapy of amyloid cardiac dysfunction.
  86. Wechalekar A.D., Gillmore J.D., Wassef N. et al. Abnormal N-terminal fragment of brain natriuretic peptide in patients with light chain amyloidosis without cardiac involvement at presentation is a risk factor for development of cardiac amyloidosis. // *Haematologica*. - 2011. - Vol. 96. -P. 1079–1080.
  87. Palladini G., Hegenbart U., Milani P. et al. A staging system for renal outcome and early markers of renal response to chemotherapy in AL amyloidosis. // *Blood*. - 2014. - Vol. 124. P. 2325–2332.
  88. Palladini G., Basset M., Milani P. et al. Biomarker-based screening of organ dysfunction in patients with MGUS allows early diagnosis of AL amyloidosis. // *Blood*. -2017. -Vol. 130. - P. 1760.
  89. Wechalekar A.D., Schonland S.O., Kastritis E. et al. A European collaborative study of treatment outcomes in 346 patients with cardiac stage III AL amyloidosis. // *Blood*. - 2013. - Vol. 121. - P. 3420–3427.
  90. Dispenzieri A., Gertz M.A., Kyle R.A. et al. Serum cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide: a staging system for primary systemic amyloidosis. // *J. Clin. Oncol.* 2004. - Vol. 22. - P. 3751–3757.
  91. Kristen A.V., Giannitsis E., Lehrke S. et al. Assessment of disease severity and outcome in patients with systemic light-chain amyloidosis by the high-sensitivity troponin T assay. // *Blood*. -2010. - Vol. 116. -P. 2455–2461.
  92. Palladini G., Barassi A., Klersy C. et al. The combination of high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) at presentation and changes in N-terminal natriuretic peptide type B (NT-proBNP) after chemotherapy best predicts survival in AL amyloidosis. // *Blood*. -2010. - Vol. 116. - P. 3426–3430.
  93. Kumar S., Dispenzieri A., Lacy M.Q. et al. Revised prognostic staging system for light chain amyloidosis incorporating cardiac biomarkers and serum free light chain measurements. *J. Clin. Oncol.* - 2012. - Vol. 30. - P. 989–995.
  94. Palladini G., Milani P., Foli A. Oral melphalan and dexamethasone grants extended survival with minimal toxicity in AL amyloidosis: long-term results of a risk-adapted approach. // *Haematologica*. - Vol. 99. - P. 743–750.
  95. Kastritis E., Gavriatopoulou M., Roussou M. et al. Renal outcomes in patients with AL amyloidosis: prognostic factors, renal response and the impact of therapy. // *Am. J. Hematol.* - 2017. - Vol. 92. - P. 632–639.
  96. Sancharawala V. Light-chain (AL) amyloidosis: diagnosis and treatment. // *Clin J Am Soc Nephrol*. - 2006. - Vol. 1.- P.1331–41.
  97. Griffin J.M., Rosenblum H., Maurer M.S. Pathophysiology and therapeutic approaches to cardiac amyloidosis. // *Circ Res*. - 2021. - Vol.128.- P.1554–75.
  98. Garcia-Pavia P. Rapezzi C. Adler Y., et al. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: a position statement of the ESC working group on myocardial and pericardial diseases.// *Eur Heart J.* - 2021. - Vol 42. -P.1554–68.
  99. Manolis A.S., Manolis A.A., Manolis T.A., Melita H. Cardiac amyloidosis: An underdiagnosed/underappreciated disease. // *Eur J Intern Med.* - 2019. - Vol. 67. - P.1–13.
  100. Ihne S., Morbach C., Obici L. Amyloidosis in heart failure. // *Curr Heart Fail Rep.* - 2019. - Vol 16.- P.285–303.
  101. Siddiqi O.K., Ruberg F.L. Cardiac amyloidosis: an update on pathophysiology, diagnosis, and treatment. // *Trends Cardiovasc Med.* - 2018. Vol. 28.- P.10–21.
  102. Rubin J., Maurer M. S. Cardiac amyloidosis: overlooked, underappreciated, and treatable. // *Annu Rev Med.* - 2020. - Vol. 71. - P.203–19.
  103. Palladini G., Schonland S.O., Sancharawala V., et al. Clarification on the definition of complete haematologic response in lightchain (AL) amyloidosis. // *Amyloid*. 2021. - Vol. 28. - P.1–2.
  104. Palladini G., Dispenzieri A., Gertz M.A., et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. // *J Clin Oncol*. 2012. - Vol. 30, N

- 36.- P.4541–4549.
105. Manwani R., Cohen O., Sharpley F., et al. A prospective observational study of 915 patients with systemic AL amyloidosis treated with upfront bortezomib. // *Blood*. 2019. - Vol. 134, N 25. - P. 2271–2280.
106. Sidana S., Dispenzieri A., Murray D.L., et al. Revisiting complete response in light chain amyloidosis. // *Leukemia*. 2020. - Vol. 34, N 5. - P. 1472–1475.
107. Muchtar E., Gertz M.A., Lacy M.Q., et al. Refining amyloid complete hematological response: quantitative serum free light chains superior to ratio. // *Am J Hematol*. 2020. - Vol. 95, N 11. - P. 1280–1287.
108. Milani P., Basset M., Nuvolone M., et al. Indicators of profound hematologic response in AL amyloidosis: complete response remains the goal of therapy. // *Blood Cancer J*. - 2020. - Vol. 10, N 8. - P.90.
109. Kastritis E., Fotiou D., Theodorakakou F., et al. Timing and impact of a deep response in the outcome of patients with systemic light chain (AL) amyloidosis. // *Amyloid*. 2021. - Vol. 28, N 1. - P.3–11.
110. Пирогова О.В., Кудяшева О.В., Смирнова А.Г. Роль трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток в лечении пациентов с системным AL-амилоидозом. // *Клиническая онкогематология*. - 2023. – Том. № 16, № 2. - С.128–36.
111. Sanchorawala V., Boccadoro M., Gertz M., et al. Guidelines for high dose chemotherapy and stem cell transplantation for systemic AL amyloidosis: EHA-ISA working group guidelines. // *Amyloid*. - 2022. - Vol. 29, N 1.- P. 1-7.
112. Basset M., Milani P., Nuvolone M., et al. Sequential response-driven bortezomib-based therapy followed by autologous stem cell transplant in AL amyloidosis. // *Blood Adv*. - 2020. Vol 4. - P. 4175–9.
113. Dispenzieri A., Buadi F., Kumar S.K., et al. Treatment of immunoglobulin light chain amyloidosis: Mayo stratification of myeloma and risk-adapted therapy (mSMART) consensus statement. // *Mayo Clin Proc*. - 2015. - Vol. 90. - P.1054–81.
114. Wechalekar A.D., Cibeira M.T., Gibbs S.D., et al. Guidelines for non-transplant chemotherapy for treatment of systemic AL amyloidosis: EHA-ISA working group. // *Amyloid*. - 2022. - Vol. 2022. - P. 1–15.
115. Colvin M. Alkylating agents. // *Holland-Frei Cancer Medicine Hamilton*. - 2003.
116. Driscoll J.J., Girnius S. Proteasome inhibitors to treat AL amyloidosis. // *Exploring New Findings on Amyloidosis*. - 2016.
117. Tanaka K. The proteasome: overview of structure and functions. // *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. - 2009. - Vol. 85.- P.12–36.
118. Thibaudeau T.A., Smith D.M. A practical review of proteasome pharmacology. // *Pharmacol Rev*. - 2019. - Vol. 71. - P.170–97.
119. Oliva L., Orfanelli U., Resnati M., et al. The amyloidogenic light chain is a stressor that sensitizes plasma cells to proteasome inhibitor toxicity. // *Blood*. - 2017. - Vol. 129. - P.2132–42.
120. Kervoelen C., Ménoret E., Gomez-Bougie P. et al. Dexamethasone-induced cell death is restricted to specific molecular subgroups of multiple myeloma. // *Oncotarget*. - 2015. - Vol. 6.- P.26922–34.
121. Bézard M., Oghina S., Vitiello D., et al. Dexamethasone is associated with early deaths in light chain amyloidosis patients with severe cardiac involvement. // *PLoS ONE*. - 2021. - Vol. 16.- P.e0257189.
122. Le Bras F., Molinier-Frenkel V., Guellich A., et al. Sequential cyclophosphamide-bortezomib-dexamethasone unmasks the harmful cardiac effect of dexamethasone in primary light-chain cardiac amyloidosis. // *Eur J Cancer*. - 2017. - Vol. 76.- P.183–7.
123. Bazzi T., Kropman K., Benjamin M., Al-Rammahi A. Light chain amyloidosis presenting as a septic shock: a case report and review of literature. // *Cureus*. - 2022. - Vol. 14.- P.e30263.
124. Kastritis E., Wechalekar A., Schönland S. et al. Challenges in the management of patients with systemic light chain (AL) amyloidosis during the covid-19 pandemic. *Br J Haematol*. - 2020. - Vol. 190. – P. 346–57.
125. van de Donk N.W.C.J., Richardson P.G., Malavasi F. Cd38 antibodies in multiple myeloma: back to the future. *Blood*. - 2018. - Vol. 131.-P.13–29.
126. Kastritis E., Palladini G., Minnema M.C. et al. Daratumumab-Based Treatment for Immunoglobulin Light-Chain Amyloidosis. // *N Engl J Med*. - 2021. - Vol. 385, N 1.- P. 46-58.
127. Kastritis E., Leleu X., Arnulf B. et al. Bortezomib, melphalan, and dexamethasone for light-chain amyloidosis. // *J Clin Oncol*. - 2020. - Vol. 38.- P. 3252-3260
128. Cibeira M.T., Oriol A., Lahuerta J.J., et al. Phase II trial of lenalidomide, dexamethasone and cyclophosphamide (lendexal) for previously untreated patients with light-chain amyloidosis. // *Haematologica*. - 2014. - Vol. 99. - P. 117–118.
129. Moreau P., Jaccard A., Benboubker L., et al. Lenalidomide in combination with melphalan and dexamethasone in patients with newly diagnosed light-chain (AL)-amyloidosis: a multicentre phase I/II dose escalation study. // *Amyloid*. 2010. - Vol. 17. - P. 87–88.
130. Kastritis E., Dialoupi I., Gavriatopoulou M., et al. Primary treatment of light-chain amyloidosis with bortezomib, lenalidomide, and dexamethasone. // *Blood Adv*. 2019. - Vol. 3, N 20. - P. 3002–3009.
131. Milani P., Sharpley F., Schonland S.O., et al. Pomalidomide and dexamethasone grant rapid haematologic responses in patients with relapsed and refractory AL amyloidosis: a European retrospective series of 153 patients. // *Amyloid*. 2020. - Vol. 27, N 4. - P.231–236.
132. Dispenzieri A., Buadi F., Laumann K., et al. Activity of pomalidomide in patients with immunoglobulin light-chain amyloidosis. // *Blood*. - 2012. - Vol. 119, N 23.- P. 5397–5404.
133. Wechalekar A.D., Schonland S.O., Kastritis E., et al. A European collaborative study of treatment outcomes in 346 patients with cardiac stage III AL amyloidosis. // *Blood*. - 2013. - Vol. 121, N 17.- P. 3420–3427.

134. Le Bras F, Molinier-Frenkel V, Guellich A, et al. Sequential cyclophosphamide-bortezomib-dexamethasone unmasks the harmful cardiac effect of dexamethasone in primary light-chain cardiac amyloidosis. // *Eur J Cancer*. - 2017. - Vol. 76. - P.183–187.
135. Kastiris E, Minnema M.C., Dimopoulos M.A., et al. Efficacy and safety of daratumumab monotherapy in newly diagnosed patients with stage 3b light chain amyloidosis: a phase 2 study by the European myeloma network. // *Blood*. - 2021. - Vol. 138 (Supplement 1). - P. 2730–2730
136. Kimmich C.R., Terzer T, Benner A, et al. Daratumumab for systemic AL amyloidosis: prognostic factors and adverse outcome with nephrotic-range albuminuria. // *Blood*. - 2020. - Vol. 135, N18. - P. 1517–1530.
137. Sidana S, Larson D.P., Greipp P.T., et al. IgM AL amyloidosis: delineating disease biology and outcomes with clinical, genomic and bone marrow morphological features. // *Leukemia*. - 2020. - Vol. 34, N5. - P. 1373–1382.
138. Milani P, Schonland S, Merlini G., et al. Treatment of AL amyloidosis with bendamustine: a study of 122 patients. // *Blood*. - 2018. - Vol. 132, N 18. - P. 1988–1991.
139. Manwani R, Sachchithanatham S, Mahmood S, et al. Treatment of IgM-associated immunoglobulin light-chain amyloidosis with rituximab-bendamustine. // *Blood*. 2018. - Vol. 132. - P.761–764.
140. Pika T, Hegenbart U, Flodrova P, et al. First report of ibrutinib in IgM-related amyloidosis: few responses, poor tolerability, and short survival. // *Blood*. - 2018. - Vol. 131. - P. 368–371.
141. Gupta V.A., Ackley J., Kaufman J.L., et al. BCL2 family inhibitors in the biology and treatment of multiple myeloma. // *Blood Lymphat Cancer*. - 2021. - Vol. 11. - P.11–24.
142. Kumar S.K., Harrison S.J., Cavo M., et al. Venetoclax or placebo in combination with bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (BELLINI): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 trial. // *Lancet Oncol*. - 2020. - Vol. 21(12). - P.1630–1642.
143. Premkumar V.J., Lentzsch S., Pan S., et al. Venetoclax induces deep hematologic remissions in t(11;14) relapsed/refractory AL amyloidosis. // *Blood Cancer J*. - 2021. - Vol. 11(1). - P.10.

Романенко Н.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия;  
<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

### ИММУННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ (ЛЕКЦИЯ) ЧАСТЬ 4

#### Резюме

Иммунные гемолитические анемии (ГА) – анемии, обусловленные действием антител против эритроцитов либо в результате фагоцитоза, либо за счет активации комплемента, которые могут носить внесосудистый (внутриклеточный), внутрисосудистый или смешанный характер. В процессе ускоренного разрушения эритроцитов в крови образуются продукты их распада, увеличивается непрямым билирубин и регистрируется положительная проба Кумбса. В представленной лекции подробно изложены иммунные механизмы возникновения гемолиза, приведены этиологические факторы различных нозологических форм иммунных ГА. В доступной форме детально разъясняется классификация им-

мунных гемолитических анемий. Также в лекции изложены не только общие вопросы клиники, диагностики, лечения и профилактики гемолитических анемий, но и конкретных нозологических форм заболеваний. Лекция представляет особый интерес для врачей-гематологов, трансфузиологов, терапевтов, педиатров, повышающих квалификацию, а также – для клинических ординаторов и студентов медицинских вузов.

**Ключевые слова:** гемолитическая анемия, гемоглобин, аутоиммунная гемолитическая анемия, гетероиммунная гемолитическая анемия, аллоантитела, аутоантитела, гемолиз, ретикулоциты, эритропоэз, проба Кумбса, билирубин, эритроциты.

Romanenko N.A. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg, Russia;  
<sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

### IMMUNE HEMOLYTIC ANEMIA (LECTURE) PART 4

#### Abstract

Immune hemolytic anemias (HA) are anemia caused by the action of antibodies against red blood cells (RBCs) as a result of phagocytosis, or due to complement activation and is extravascular (intracellular), intravascular or mixed genesis. In the process of accelerated destruction of RBCs are formed their decay products, increases indirect bilirubin in the blood and also it is recorded a positive Coombs test. The immune mechanisms of the occurrence of hemolysis are described in detail, the etiological factors of various forms of immune HA are shown in the presented lecture. In an accessible form, the classification of immune

hemolytic anemias is explained in detail. Also, the lecture outlines not only general issues of the clinic, diagnosis, treatment and prevention of immune HA, but also specific forms of diseases. The lecture is of particular interest to hematologists, transfusiologists, internists, pediatricians who improve their qualifications, as well as clinical residents and students of medical universities.

**Keywords:** hemolytic anemia, hemoglobin, autoimmune hemolytic anemia, heteroimmune hemolytic anemia, alloantibodies, autoantibodies, hemolysis, reticulocytes, erythropoiesis, Coombs test, bilirubin, red blood cells

Гемолитическая анемия (ГА) – это патология эритроцита, при которой имеет место ускоренное разрушение красных кровяных телец (эритроцитов) с последующим высвобождением непрямого (неконъюгированного) билирубина.

При ГА, как известно, длительность жизни эритроцита резко сокращается: в норме продолжительность жизни эритроцита в кровеносном русле составляет 100-120 дней, в то время как при данном

виде анемий резко сокращается, нередко составляя 8-15 дней. С возникновением анемии, следовательно, и гипоксии (в том числе гипоксии почек), компенсаторно усиливается эритропоэз за счет повышения концентрации эндогенного эритропоэтина, синтезируемого в интерстициальном веществе почек и в печени. В результате раздраженного эритропоэза не только увеличивается содержание эритроидных элементов в костном мозге, но и повыша-

ется количество ретикулоцитов в периферической крови, как правило, превышающее 50% или >5 % (часто от 90% до 250%), при нормальном их значении 2-12%. Иными словами, анемия в результате гемолиза может развиваться лишь при сокращении продолжительности жизни эритроцита более, чем в 5-10 раз, по сравнению с нормой.

Как ранее отмечалось, гемолитические анемии принято подразделять на две большие группы: врожденные или наследственные (рассмотрены в предыдущих лекциях) и приобретенные. Приобретенные ГА подразделяют на анемии иммунного и неиммунного (ранее было представлено) генеза. В настоящей лекции будут детально рассмотрены приобретенные гемолитические анемии иммунного генеза. Это большая группа анемий, которые могут быть представлены как самостоятельными нозологическими формами, так и проявлением других системных аутоиммунных, онкологических и гематологических заболеваний, но в основе их патогенеза лежит воздействие различных иммунных факторов (антител, комплемента, Т-, НК-клеток лимфоидного ряда, макрофагов), приводящих к гибели эритроцитов. Однако несмотря на различные механизмы гемолиза основные черты иммунных гемолитических анемий (ИГА), как правило, схожи с ГА неиммунного генеза и характеризуются наличием анемического синдрома (АС) в сочетании с синдромом регенерации эритронов и синдромом гемолиза, но различить

их помогает проба Кумбса, позволяющая выявить антитела (рис. 1).

В целом для ГА, характерны: 1) желтуха или иктеричность (кожных покровов, видимых слизистых, склер); 2) гипербилирубинемия (за счет несвязанного с глюкуроновой кислотой (непрямого) билирубина); 3) уробилируинурия (потемнение мочи за счет высокого содержания уробилина в моче) и гиперхолия (темная расцветка) кала; 4) спленомегалия или гепатоспленомегалия; 5) гиперретикулоцитоз (увеличение ретикулоцитов более 5% или 50%). Эти характеристики в сочетании с анемией дают повод заподозрить гемолитическую анемию. В диагностике ГА также важно уточнить характер гемолиза определив в крови уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гаптоглобина, связывающего свободный гемоглобин, гемосидерина в моче, которые являются индикаторами внутрисосудистого (внеклеточного) гемолиза, которые позволяют дифференцировать его от внесосудистого (внутриклеточного).

Морфология мазков периферической крови нередко помогает выявить полихромазию, макроцитоз, сфероцитоз, эллиптоцитоз, фрагментированные или серповидные клетки, мишеневидные, ядродержащие эритроидные элементы (нормоциты/эритробласты) часто характерные для врожденных ГА. В то же время сочетание анемии с другими цитопениями может быть характерно для системных иммунных нарушений, а наличие кост-



Рисунок 1. Алгоритм диагностики гемолитических анемий

номозговой недостаточности особенно в сочетании с бластными клетками – гемобластоз.

Большую информацию в диагностике ГА может дать тщательный осмотр пациента, позволяющий обнаружить аномалии развития скелета, не характерных для иммунных, но характерных для наследственных ГА (башенный череп, высокое «готическое» твердое небо, микрофтальмия, аномалии расположения зубов, укорочение мизинцев). Также для наследственных ГА характерны трофические изменения кожи, некроз в головках крупных костей, внутренних органов с соответствующей симптоматикой, обусловленные микроциркуляторными нарушениями вследствие измененной формы эритроцитов, например, при некоторых вариантах патологии мембраны клеток или нарушения структуры гемоглобина с его полимеризацией. Особое значение в диагностике ГА имеет анамнез заболевания, указание, например, на связь развития анемии с сопутствующим лимфопролиферативным или системным аутоиммунным заболеванием, при котором анемия будет являться симптомом болезни, или связь с укусом змеи, паука, яд которых обладает гемолитическим действием, или связь с трансфузиями, с введением сыворотки, вакцины и т.д. Выяснение вопроса, о том когда наступает гемолиз, на холоде или в тепле, для иммунных ГА может носить тоже важное значение.

Для дифференциальной диагностики гемолитической анемии используются специальные лабораторные методы исследования, и одним из основных тестов, позволяющих отличить иммунную от неиммунной ГА является антиглобулиновый тест Кумбса.

### **Патогенез иммунного гемолиза**

Иммунный гемолиз при иммунных гемолитических анемиях обусловлен синтезом антител к антигенам эритроцитов с последующим разрушением эритроцитов двумя путями: 1) фагоцитозом, 2) за счет активации комплемента. Гемолиз может носить внесосудистый (внутриклеточный, в основном в селезенке), внутрисосудистый и смешанный характер.

В организме человека синтезируются иммуноглобулины (антитела) различных классов – IgM, IgG, IgA, IgD и IgE. Каждый из них выполняет свою определенную функцию по обеспечению защиты организма от чужеродных агентов. Так, антитела класса IgM появляются в самой ранней фазе иммунного ответа на воздействие чужеродного антигена (в первые 4-6 дней с момента попадания в организм антигена), но уже начиная с 7-9 (особенно к 11-12 дню) – синтезируются иммуноглобулины класса IgG, IgA, при этом иммуноглобулины класса IgA локализуются в основном на слизистых глаз, дыхательной, пищеварительной, мочевыделительной систем, защищая от вирусов и бактерий; а роль IgE заключена в борьбе с некоторыми паразитами (гельминтами), а также – в участии аллергической (атопической)

реакции. Антитела несут на себе два Fc-фрагмента (антиген-специфичный, он характерен только для конкретного чужеродного антигена) и один Fc-фрагмент (у всех иммуноглобулинов Fc-фрагмент схож и имеет афинность к собственным иммунным клеткам – макрофагам, Т-лимфоцитам).

Антиэритроцитарные антитела по механизму повреждения эритроцитов подразделяют на следующие:

1) агглютинины – вызывают агглютинацию или склеивание эритроцитов (чаще иммуноглобулины класса IgM);

2) опсонины – прикрепляются на поверхности эритроцита («метят» его) с последующим обеспечением фагоцитоза макрофагам или Т-лимфоцитам;

3) гемолизины – разрушают эритроциты путем активации системы комплемента на поверхности эритроцита, после взаимодействия антитела с антигеном (чаще иммуноглобулины класса IgG, реже – IgM или IgA).

Теперь рассмотрим подробнее приведенные механизмы повреждения эритроцитов.

1) Известно, что эритроцитарные клетки на себе несут отрицательный заряд, следовательно, они отталкиваются друг от друга на определенное расстояние, составляющее около 30 нм (для солевой среды). Расстояние между Fc-фрагментами иммуноглобулина M достаточно большое, составляя около 30 нм. Такое антитело класса IgM одновременно может связать между собой два эритроцита и более, т.е. вызвать агглютинацию, не требуя особых условий для реакции (реакция происходит как в солевой, так и коллоидной среде), поэтому их называют полными агглютинидами. В то же время, участки связывания комплемента, расположенные на Fc-фрагментах молекулы IgM находятся на небольшом расстоянии друг от друга, что облегчает фиксацию компонентов мембраноатакующего комплекса (МАК) на поверхности эритроцитов. Формирование такого мембраноповреждающего комплекса приводит к образованию пор (дыр) в мембране эритроцита, через которую внутрь клетки поступают молекулы воды, приводя к набуханию и разрушению клетки. Гемолиз эритроцитов происходит внутри сосуда. Такие антитела наиболее эффективно связываются с эритроцитарными антигенами при температуре 4°C, поэтому их называют холодовыми.

2) В редких случаях разрушение эритроцитов может происходить путем активации системы комплемента на поверхности эритроцита непосредственно после взаимодействия антитела класса IgG, реже – IgM или IgA. Такие антитела называют гемолизинами. Как правило, гемолиз носит внутрисосудистый характер, и имеет острое течение. Максимальна эффективность связывания антител с антигенами эритроцитов при температуре 37°C, что справедливо их относит к тепловым антителам.

3) Иначе происходит реакция с участием анти-



тел класса IgG или IgA. У этих антител расстояние между Fa-фрагментами малое (около 9 нм), поэтому они лишь осаждаются (фиксируются) на эритроците (антигене). При этом из-за высокой силы отталкивания, возникающего вследствие отрицательных зарядов, не происходит соединения (агглютинации) двух эритроцитов. Для возникновения агглютинации требуются определенные условия, снижающие отрицательный заряд, например, добавление коллоидного раствора (желатина, полиглокина). Вот почему эти антитела называют неполными. Для выявления такого типа антител используется прямая реакция Кумбса.

В организме человека неполные антитела фиксируются (салятся) на поверхности эритроцита («метят»), но реакции агглютинации в сосудах не происходит. Однако такие «меченные» эритроциты, распознаются макрофагами (благодаря наличию рецепторов к Fc-фрагменту IgG1 и IgG3), которые их и разрушают (пожирают). Гемолиз происходит внутриклеточно в ретикулоэндотелиальной системе.

Нередко происходит частичный фагоцитоз эритроцитов, приводящий к появлению микросфероцитов, что является отличительным признаком внесосудистого гемолиза, который приходится дифференцировать с врожденной микросфероцитарной анемией Минковского-Шофара. Поскольку макрофаги несут также C3b рецептор комплемента, следовательно, эти эритроциты, на которых фиксирован C3b комплемент, то же подвергаются и внесосудистому гемолизу. Наиболее выраженное разрушение эритроцитов наблюдается, если на их мембранах одновременно фиксированы IgG и C3b.

Важно подчеркнуть, что такие неполные антитела классов IgG или IgA, вызывающие внесосудистый гемолиз, максимально эффективно связываются с антигенами эритроцитов (чаще Rh) при температуре 37°C, поэтому их принято называть тепловыми.

Ниже представлена характеристика внесосудистого (внутриклеточного) и внутрисосудистого иммунного гемолиза (Таблица 1).

Таблица 1

Характеристика иммунного гемолиза

Признаки	Вид гемолиза	
	Внесосудистый (внутриклеточный)	Внутрисосудистый
Характерный класс иммуноглобулинов	IgG, IgA	IgM
Механизм повреждения эритроцитов	опсонизация, фагоцитоз	гемолиз, опосредованный комплементом
Место разрушения эритроцитов	селезенка, печень, костный мозг	внутри сосудов
Прямая проба Кумбса	IgG (+)	C3b комплемент (+)
Причины	1) идиопатический (причина не установлена); 2) симптоматический: - гемобластозы; - злокачественные новообразования; - коллагенозы; - вирусные инфекции; - лекарственные средства	1) идиопатический (причина не установлена); 2) симптоматический: - гемобластозы; - микоплазменная инфекция; - корь; - эпидемический паротит; - сифилис (пароксизмальная холодовая гемоглобинурия); - инфекция, вызванная вирусом группы герпес (Эпштейн-Барр); - лекарственные средства

Подводя итог, важно отметить, что эффекторами внесосудистого иммунного гемолиза являются макрофаги (моноциты, гистиоциты), Т-лимфоциты и антитела (чаще тепловые, класса IgG), которые наиболее активно связываются с эритроцитарными антигенами при 37°C. В то же время эффекторами внутрисосудистого иммунного гемолиза в большинстве случаев являются антитела класса IgM, а также формирующийся в результате активации системы комплемента МАК. Антитела при таком варианте в большинстве случаев относятся к холодным, наиболее активно связывающимися с антигенами эри-

троцитов при 4°C, хотя в небольшом проценте случаев могут быть и тепловыми гемолизинами класса IgG, реже – IgA и IgM.

#### Классификация иммунных гемолитических анемий

Все иммунные ГА подразделяются следующие варианты:

I. Аутоиммунные гемолитические анемии (АИГА): антитела вырабатываются к антигенам собственных эритроцитов, например при лимфопролиферативных заболеваниях (ЛПЗ), системной красной

волчанке (СКВ).

II. Аллоиммунные или изоиммунные гемолитические анемии: антитела вырабатываются к чужеродным донорским антигенам эритроцитов, например, при переливании эритроцитной взвеси, не подобранной по антигенам Rh, Cc, Ee, Kell, Duffy и др.

III. Трансиммунные ГА: трансплацентарная передача антител от матери плоду при гемолитической болезни новорожденных.

IV. Гетероиммунные ГА: антитела к антигенам эритроцитов, измененным лекарственным препаратом, вирусом или бактерией.

V. Аутоиммунные ГА с антителами против антигена эритроблеста с развитием парциальной красноклеточной аплазии (ПККА).

Рассмотрим каждый из приведенных вариантов иммунных ГА, начиная с детального изложения аутоиммунных гемолитических анемий.

### **I. Аутоиммунные гемолитические анемии (код по МКБ10 – D59.1 – другие аутоиммунные гемолитические анемии)**

#### *Характеристика АИГА*

Аутоиммунные гемолитические анемии – это анемии, сопровождающиеся гемолизом эритроцитов, опосредованным антителами против антигенов своих эритроцитов, и носят вторичный характер, так как возникает на фоне другого заболевания, например, ВИЧ-инфекции, злокачественного заболевания лимфатической системы, системной красной волчанки, хронического активного гепатита В или С, неспецифического язвенного колита, ревматоидного артрита. Они могут также развиваться после перенесенной острой инфекции (гриппа, ангины) или быть индуцированными лекарственной терапией. Описаны варианты, ассоциированные с имплантированными металлоконструкциями, например, зубными имплантами, искусственными суставами. Но у части пациентов аутоиммунные гемолитические анемии могут быть и самостоятельным заболеванием.

Различные формы АИГА определяются типами аутоантител, которые могут быть полными (чаще IgM) или неполными (чаще IgG, IgA), агглютинидами или гемолизинами и относятся к различным классам иммуноглобулинов и их сочетанием. В зависимости от вида антител механизмы гемолиза отличаются между собой.

1. Наиболее часто встречаемая форма – АИГА с неполными тепловыми агглютинидами. Гемолиз эритроцитов, опосредованный антителами класса IgG, реализуется: 1) либо путем иммунной адгезии эритроцитов к макрофагам, опосредованной самими антителами; 2) либо компонентами комплемента, адсорбированными на мембране эритроцита; 3) либо посредством активации комплемента, завершающего повреждение мембраны эритроцита.

2. При болезни холодных агглютининов, представляющих собой иммуноглобулины (в основном

класса IgM), которые связываются с эритроцитарными антигенами при температуре ниже 37,0°C, может наблюдаться повышенная чувствительность к холоду, проявляющаяся акроцианозом, синдром Рейно, окклюзией сосудов, отчетливо ассоциированные с охлаждением. Прямая проба Кумбса с антителами к иммуноглобулинам обычно отрицательна, но с антителами к комплементу может быть положительной.

АИГА может одновременно сопровождаться тромбоцитопенией, что характерно для синдрома Эванса-Фишера, наблюдаемого при ЛПЗ, и нейтропенией аутоиммунного генеза. Однако при выраженном гемолизе нередко характерен реактивный лейкоцитоз с омоложением лейкоцитарной формулы.

Важно подчеркнуть, что при АИГА антитела вырабатываются против собственного неизменного антигена эритроцитов, чаще относящиеся к системе Резус, реже – к другим антигенным системам.

В классификации по МКБ10 с кодом D59.1 – другие аутоиммунные гемолитические анемии выделяют:

- Аутоиммунная гемолитическая болезнь: 1) холодовой тип, 2) тепловой тип;

- Хроническая болезнь, вызываемая холодными гемогглютинидами;

- Холодовая агглютининовая болезнь (гемогглюбинурия);

- Гемолитическая анемия: 1) холодовой тип (вторичная симптоматическая), 2) тепловой тип (вторичная симптоматическая).

Однако для удобного восприятия материала и для практической деятельности врача наиболее приемлема классификация АИГА в зависимости от серологических свойств антител и фактору, вызывающему аутоиммунную реакцию.

1. Симптоматические – обусловлены гемобластомами, системной красной волчанкой, ревматоидным артритом, онкологическим заболеванием (неопластические процессы), иммунодефицитным состоянием.

2. Идиопатические, которые подразделяются на следующие:

1) АИГА с неполными тепловыми агглютинидами (около 80% всех АИГА);

2) АИГА с тепловыми гемолизинами (редко);

3) АИГА с полными холодными агглютинидами (12-15% больных), по МКБ10 называется холодовая агглютининовая болезнь;

4) АИГА с двухфазными холодными гемолизинами /типа Доната-Ландштейнера/ (крайне редкая, чаще вторичная форма при сифилисе и вирусных инфекциях).

Клинические проявления гемолиза, выбор терапии, прогноз заболевания определяются типом антител.

#### *Эпидемиология*

Частота встречаемости АИГА от 1:40 000 до 1:80

000 населения. Чаще встречается у женщин 2:1. Возраст – любой, но преимущественно у взрослых.

**1) Аутоиммунные гемолитические анемии с неполными тепловыми агглютинидами (антителами)**

*Патогенез*

Тепловые антитела относятся к классу IgG, реже – к классу IgA и крайне редко – к IgM. Основных механизмов гемолиза эритроцитов посредством антител IgG два: 1) основной механизм – на мембране эритроцита адсорбируются неполные антитела (эти антитела вызывают агглютинацию), далее происходит иммунная адгезия эритроцитов к макрофагам, опосредованная как самими антителами, так и компонентами комплемента, затем происходит их разрушение внутри клетки макрофага (внутриклеточный гемолиз); 2) взаимодействие антитела с антигеном эритроцита приводит к активации комплемента на поверхности эритроцита, что ведет к завершению повреждения мембраны эритроцита.

Заболевание может носить самостоятельный характер с неустановленной причиной – идиопатическая форма, а может быть ассоциировано с другими заболеваниями (ЛПЗ, злокачественные опухоли, СКВ, ревматоидный артрит, узелковый периартериит, аутоиммунные заболевания щитовидной железы) – симптоматическая форма.

*Клиническая картина*

АИГА с тепловыми антителами может развиваться в любом возрасте, но чаще наблюдается у взрослых, особенно у женщин. У 25% больных эта анемия является симптоматической на фоне гемобластозов (чаще ЛПЗ), системных заболеваний соединительной ткани (особенно СКВ), что крайне важно учитывать при диагностике и выборе тактики лечения.

Тяжелая форма характеризуется острым началом с повышения температуры, нарастающей слабости, снижением толерантности к физической деятельности. Кожные покровы бледные и желтушные, отмечается иктеричность видимых слизистых. Уровень гемоглобина снижается от умеренного до угрожающе низких цифр, иногда ниже 30 г/л. Может отмечаться потемнение мочи.

Хроническое течение заболевания характеризуется также бледностью и желтушностью кожных покровов и слизистых. Иногда незначительно увеличивается селезенка. Наличие спленомегалии заставляет задуматься о вторичном генезе АИГА, обусловленном лимфопролиферативным заболеванием. У половины больных – увеличение печени. При одновременном наличии иммунной тромбоцитопении заболевание называют синдромом Эванса-Фишера (D69.3 по МКБ 10), характеризующегося наличием аутоантител не только к эритроцитам, но и – к тромбоцитам. Могут наблюдаться тромбозы вен.

*Диагностика*

В клиническом анализе крови характерна нор-

мохромная анемия с выраженным ретикулоцитозом. Число лейкоцитов, тромбоцитов может увеличиваться, но иногда – снижаться, что зависит от основного заболевания. В миелограмме имеется раздражение «красного ростка». Может выявляться снижение осмотической резистентности эритроцитов, повышение кислотоустойчивости эритроцитов. Повышается содержание непрямой фракции билирубина. Характерно повышение активности ЛДГ в сыворотке крови в 2-8 раз (особенно при преобладании внутрисосудистого гемолиза). Повышен средний уровень креатина эритроцитов (предшественник креатинина, характеризующий омоложение). В период гемолиза увеличивается сывороточное железо, иногда повышается калий в крови, что указывает на гемолиз. Моча может быть темной вплоть до «цвета кофе».

Прямая проба Кумбса – основной метод диагностики – положительна более чем в 98% случаев. Как правило, обнаруживают IgG в сочетании с С3 фракцией комплемента или без него. При отрицательной прямой пробе Кумбса антитела к эритроцитам можно обнаружить при помощи агрегат-гемагглюгационного теста. Важно помнить, что при АИГА антитела могут не выявляться, особенно после гемолитического криза, так как происходит их потребление (истощение) в процессе гемолиза, а новые еще не синтезировались.

Редко может выявляться свободный гемоглобин в сыворотке крови (более характерен для гемолизиновой АИГА или периода гемолитического криза). Характерен феномен «снижения» гаптоглобина сыворотки обусловленного тем, что гаптоглобин, перенасыщенный гемоглобином разрушенных эритроцитов, перестает связывать добавленный в пробирку меченый гемоглобин. Изменены биофизические свойства эритроцитов, их деформируемость (пластичность), плотность (фильтруемость) и электрофоретическая подвижность.

**2) Аутоиммунная гемолитическая анемия с тепловыми гемолизинами**

*Характеристика*

Заболевание встречается редко. Начало заболевания может быть спокойным или с развитием кризов.

Характеризуется внутрисосудистым гемолизом (выделение черной мочи – «цвета кофе»), который обусловлен тепловыми гемолизинами с участием активированной системы комплемента. Характерно развитие тромбозов периферических вен и мезентериальных сосудов. У некоторых больных увеличена селезенка, печень.

Подразделяется на идиопатическую форму и симптоматическую (у больных первичным миелофиброзом, лимфопролиферативными заболеваниями).

*Клиническая картина*

Заболевание в основном манифестирует испод-

воль, реже – острое начало, как при агглютининовой форме. Для заболевания характерны анемия (иногда с гемоглобином 40-60 г/л) и желтуха. Спленомегалия, гепатомегалия выявляется у 50% больных. Характерной особенностью является выделение мочи черного цвета («цвета кофе»), даже при отсутствии анемии.

Для заболевания характерны периоды острого гемолиза (анемия с ретикулоцитозом, тромбоцитоз, гемоглинурия с выделением мочи черного цвета, спленомегалия) и ремиссии. АИГА с тепловыми гемолизинами может осложняться тромбозами периферических вен, мелких мезентериальных сосудов, сопровождающихся приступами болей в животе.

### Диагностика

Прямая проба Кумбса отрицательная. Однако характерны: а) гемоглобинемия – повышение содержания свободного гемоглобина в плазме крови, б) гемоглинурия – высокое содержание гемоглобина в моче, поэтому моча имеет темный цвет: чаще – «цвета кофе», реже – бурый (кирпичный) или вишневый цвет (в самом начале массивного гемолиза). Характерна положительная проба Хема, которая позволяет определять повышенную чувствительность оболочки эритроцитов к воздействию комплемента; инкубация эритроцитов больного и донора в плазме и сыворотке больного при температуре 37°C в течение 24-48 ч может привести к их гемолизу (тесты Кросби и Хегглина-Майера). При наличии черной мочи, наклонности к цитопениям и тромбозам необходимо исключить болезнь Маркиафавы-Микели (наличие ПНГ-клона эритроцитов, нейтрофилов, моноцитов – приобретенный дефект клеточной мембраны, лишаящий ее защиты от мембран-атакующего комплекса комплемента), которую можно диагностировать методом проточной цитометрии. Для АИГА не характерна экспрессия рецепторов CD59 (на эритроцитах), CD24 (на нейтрофилах), CD14 (на моноцитах), CD16, CD66, а также отсутствует фиксирующий их якорный белок в реакции с флуоресцентным аэролизинном [FLAER]. В некоторых случаях АИГА при выявлении транзиторного снижения экспрессии CD55 (реже CD59) на части эритроцитов при отсутствии дефекта мембраны нейтрофилов и моноцитов не является свидетельством появления ПНГ-клона.

### 3) Аутоиммунная гемолитическая анемия с полными холодовыми агглютинидами (холодовая агглютининовая болезнь)

#### Характеристика

Холодовые агглютинины – это антитела класса IgM, реже смесь иммуноглобулинов разных классов. Они вызывают агглютинацию эритроцитов при температуре 4°C. Холодовые агглютинины иногда выявляются даже у здоровых людей, но в низком титре (не более 1:64) и чаще являются поликлональными.

Следует отличать холодовые агглютинины от криоглобулинов:

- *холодовые агглютинины* – это антитела (имму-

ноглобулины моноклональные, т.е. специфичные к определенному антигену), которые связываются с антигенами эритроцитов при температуре ниже 37°C (антиген + антитело);

- *криоглобулины* – это иммуноглобулины (не специфичные к антигенам эритроцитов), способные при низких температурах образовывать иммунные комплексы, которые не связываются с антигенами эритроцитов, а осаждаются (преципитируют) на поверхности эритроцита, но при нагревании до 37°C обратно растворяются. Они характерны для повышенной чувствительности или измененной реакции организма на холод; могут сопровождаться повреждением клубочков почек. Выявляются при хронических вирусных гепатитах, гемобластозах.

Симптоматическая форма анемии с полными холодовыми агглютинидами наблюдается при гемобластозах, микоплазменной пневмонии, инфекционном мононуклеозе, гриппе, аденовирусной инфекции, хроническом гепатите. Холодовые антитела, реагирующие преимущественно с эритроцитами взрослого, называют анти-I-антитела, они характерны для доброкачественной моноклональной гаммапатии и микоплазменных инфекций. Антитела, реагирующие преимущественно с фетальными эритроцитами, называют анти-i-антителами. Они характерны для лимфом высокой степени злокачественности, а также инфекционного мононуклеоза.

*Холодовая агглютининовая болезнь* – хроническое заболевание, характеризующееся периодическими обострениями, вызванными переохлаждением. Заболевание встречается преимущественно у лиц пожилого возраста, чаще – у женщин.

Причинами симптоматической формы может быть вирусная пневмония, инфекционный мононуклеоз, хронический активный вирусный гепатит, ЛПЗ, включая болезнь Вальденстрема, моноклональная гаммапатия.

#### Клиническая картина

Заболевание характеризуется хроническим течением с периодами обострения и ремиссии. Больные отмечают плохую переносимость холода с появлением синюшности и бледности открытых участков кожи, контактируемых с холодным воздухом (чаще пальцы, кончик носа, уши – акроцианоз). В момент охлаждения возникает боль, онемение, нарушение чувствительности, характерные для синдрома Рейно. Однако эти явления обратимы и при отогревании конечностей парестезии исчезают. В период обострения также может наблюдаться лихорадка, слабость, одышка, крайне редко – гематурия, но не характерна спленомегалия. При выраженном гемолизе – анемия, желтуха, гипербилирубинемия.

#### Диагностика

В гемограмме – анемия (чаще умеренная) с ретикулоцитозом. При комнатной температуре агглютинация эритроцитов выражена настолько, что их невозможно подсчитать, поэтому гематологический

цитометр выдает, например, число эритроцитов  $0,2 \times 10^{12}/л$ , в то время как уровень гемоглобина – 90 г/л. При просмотре мазков видна выраженная их агглютинация. СОЭ увеличена до 90-120 мм/ч. У таких пациентов взятие крови для проведения клинического анализа и определения количества эритроцитов необходимо осуществлять при температуре  $37^{\circ}C$ . В сыворотке крови – повышение непрямого билирубина; обнаруживаются холодовые агглютинины. Прямая проба Кумбса с антителами к иммуноглобулинам обычно отрицательна, с антителами к комплементу – может быть положительной. Для определения диапазона температур, в котором проявляется активность холодовых агглютининов, сыворотку смешивают с эритроцитами донора группы O(I) при  $4^{\circ}C$ ,  $22^{\circ}C$  и  $37^{\circ}C$  и отмечают ту температуру, при которой развивается агглютинация. Для заболевания характерен титр антител 1:1000 и более.

#### *Дифференциальный диагноз*

Дифференцировать необходимо с патологическими состояниями, возникающими у пациента на холоде – с синдромом Рейно (носит сосудистый характер, бывает при ревматических заболеваниях), с криоглобулинемией.

#### **4) Аутоиммунная гемолитическая анемия с двухфазными холодowymi гемолизинами (типа Доната-Ландштейнера)**

##### *Характеристика*

Пароксизмальная холодовая гемоглобинурия или АИГА с двухфазными холодowymi гемолизинами – это редкая форма гемолитической анемии, характеризуется пароксизмами (эпизодами) внутрисосудистого гемолиза, гемоглобинурией, которые провоцируются охлаждением.

Впервые описана в 1900 году; для нее характерно хроническое течение и развитие анемии на холоде, сопровождающееся синдромом Рейно и приступы гемолиза.

##### *Причины*

Встречается у больных сифилисом (преимущественно врожденной формой), а также может осложнять вирусные инфекции (корь, паротит, инфекционный мононуклеоз, грипп).

##### *Патогенез*

В основе развития заболевания лежит выработка холодовых антител класса IgG, направленных против антигена P эритроцитов (гликолипидные антигены, которые синтезируются особой группой гликозилтрансфераз). Эти антитела способны взаимодействовать (связываться) с антигенами эритроцитов лишь в условиях низкой температуры ( $4^{\circ}C$ ). Это – первая фаза или иммунологическая реакция. Важно подчеркнуть, что гемолиз на холоде не происходит! Для развития второй фазы – гемолитической реакции – необходимо согревание, лишь при котором на поверхности таких эритроцитов происходит фиксация и активация комплемента, приводящего к внутрисосудистому гемолизу. Иными словами, гемо-

лиз при этой болезни возникает в результате двухфазной реакции: 1) антитела на холоде связываются с эритроцитами – первая фаза (иммунологическая реакция); 2) при отогревании активированный комплекс приводит к гемолизу – вторая фаза (гемолиз). Это, так называемые, двухфазные гемолизины Доната-Ландштейнера.

##### *Клиническая картина*

Встречается во всех возрастных категориях, чаще у детей. Заболеванию свойственно приступообразное течение и четкая связь с сезонностью (конец осени, зима, начало весны) и переохлаждением.

Пациент отмечает, что на холоде было «все хорошо», т.е. не было ни каких клинических проявлений (иммунологическая фаза), но при согревании (до  $37^{\circ}C$ ) внезапно (через несколько минут, реже через 1-2 часа после переохлаждения) возник озноб, повысилась температура тела до  $38-39^{\circ}C$ , появились боли в грудной клетке, в животе, в мышцах и стала черная моча (гемолиз). Желтушность кожных покровов и склер возникает спустя 1-2 часа. В период криза может увеличиваться и селезенка.

У половины больных течение заболевания носит скрытый характер.

##### *Диагностика*

В анализах крови – анемия, ретикулоцитоз, может быть лейкопения и тромбоцитопения в период гемолитического криза. В крови повышается концентрация свободного гемоглобина, в анализах мочи – гемоглобинурия (черного цвета моча), гемосидеринурия. При исследовании костного мозга обнаруживают раздражение «красного ростка».

Лабораторная диагностика пароксизмальной холодовой гемоглобинурии основана на выявлении двухфазный аутоантител Доната-Ландштейнера, при наличии которых гемолиз в предварительно охлажденной крови происходит при  $37^{\circ}C$ . Важно подчеркнуть, что двухфазные антитела (гемолизины) в отличие от агглютининов присутствуют в невысоком титре, поэтому тяжелая анемия случается редко. Проба Кумбса в стандартных условиях (при  $37^{\circ}C$ ) – отрицательная, но может быть положительная, если ее проводят при низкой температуре.

##### *Дифференциальная диагностика аутоиммунных гемолитических анемий*

Необходимо дифференцировать с острыми инфекциями, прежде всего с острым вирусным гепатитом, кроме того, – с острым лейкозом (эритромиелозом), другими видами гемолитических анемий (болезнью Минковского-Шоффара, дефицитом Г-6-ФДГ, болезнью Маркиафавы-Микели), а также с синдромом Жильбера.

Для острого гепатита характерно повышение прямого и непрямого билирубина, трансфераз в сыворотке крови, определение РНК и ДНК вирусом гепатитов методом ПЦР. При остром эритромиелозе в миелограмме или трепанобиоптате обнаруживаются бластные клетки. Серологическая диагностика,

определение активности Г-6-ФДГ, сахарозная проба и проба Хема, отсутствие болезни у родственников помогают в проведении дифференциального диагноза с другими гемолитическими анемиями (болезнью Минковского-Шоффара, дефицитом Г-6-ФДГ, болезнью Маркиафавы-Микели).

Синдром Жильбера (доброкачественная гипербилирубинемия) обычно диагностируют с помощью молекулярно-генетического метода – исследование мутации гена UGT1A1 (в норме последовательность в гене составляет 6А/6А, а при синдроме Жильбера – увеличение повторения аденина 7А/7А). Его можно заподозрить при неяркой гипербилирубинемии, но при этом отсутствуют признаки гемолиза (ретикулоциты в норме) и нет анемии. При синдроме Жильбера биохимические показатели функции печени в норме.

#### *Лечение*

Терапевтическая тактика ведения пациентов с АИГА определяется серологическим вариантом и остротой гемолитического криза. При лечении криза АИГА существенной разницы в тактике лечения нет. При тяжелой анемии, при сопорозном состоянии, сильной одышке, быстром падении гемоглобина до 30-40 г/л показаны трансфузии отмытых эритроцитов по экстренным показаниям; для экстренной трансфузии при АИГА лучше использовать донорские эритроциты 0(I), Rh отрицательной группы крови или – эритроциты по индивидуальному подбору. При наличии холодовых антител донорские эритроциты переливают подогретыми до 37°C.

1. Глюкокортикоидная терапия (преднизолон, дексаметазон, метилпреднизолон, триамцинолон). В первой линии для лечения тепловых форм аутоиммунных гемолитических анемий используют преднизолон в дозе 1,0 мг/кг массы тела в сутки внутрь. Повышение дозы преднизолона до 2,0 мг/кг обычно не приводит к улучшению результатов лечения. Эффект наступает в течение 1-2 недель в виде нормализации температуры тела, прекращения падения гемоглобина. Через 3-4 недели содержание гемоглобина может достичь нормы. Однако быстрое уменьшение дозы гормона после нормализации уровня гемоглобина иногда приводит к рецидиву гемолиза. Следовательно, снижение дозы преднизолона начинают по 5-10 мг в 2-3 дня, продолжают снижать до тех пор, пока ежедневная доза не составит 25-30 мг. А далее отмена гормона проводится еще медленнее (по 2,5 мг в 5-7 дней). Подобная тактика предполагает прием гормонального препарата на протяжении 3-4 месяцев. Стойкая ремиссия наблюдается лишь у 7-22% пациентов. При еще более продолжительном лечении кортикостероидами ремиссия достигается чаще, но чаще и возникают побочные эффекты (синдром Кушинга, стероидные язвы, артериальная гипертония, стероидный сахарный диабет, остеопороз, угревая сыпь с формированием гнойничков на коже, бактериальные инфекции, венозные тромбо-

зы). Важно подчеркнуть, что причиной смерти таких больных может быть не только тяжелый гемолиз и анемия, но и тромбоэмболии, бактериальные и грибковые инфекции (пневмония, септический эндокардит, уросепсис).

Пульс-терапия метилпреднизолоном при АИГА считается эффективной особенно при системной красной волчанке и других коллагенозах. Ее хорошо применять для прерывания гемолиза, а затем проводить стандартную длительную терапию в течение 3-4 месяцев. Для пульс-терапии метилпреднизолон назначают по 10-30 мг/кг/сутки (1000 мг/сутки) в течение 2-5 дней или дексаметазоном (40 мг/м<sup>2</sup>/сутки в течение 3-4 дней).

Рецидивы и рефрактерность к первой линии терапии обычно формируются после первого рецидива гемолиза. При АИГА с холодовыми агглютинами глюкокортикоиды, как правило, не эффективны.

2. В качестве второй линии (при отсутствии эффекта от гормонотерапии или развитии осложнений) выполняют спленэктомию. Она выполняется пациентам при отсутствии ремиссии в течение 1-2 лет на глюкокортикоидной терапии. Ремиссия достигается у 60% пациентов, хотя может сохраняться положительная или слабopоложительная реакция Кумбса. Однако при АИГА с холодовыми агглютинами и с тепловыми гемолизинами ответ на спленэктомию редкий – в виде уменьшения тяжести гемолитических кризов наблюдается лишь у 20% больных. Существенно лучшие результаты спленэктомии отмечаются у пациентов, гемолиз эритроцитов которых происходит в селезенке, что позволяет определить с помощью меченных <sup>51</sup>Cr или <sup>99m</sup>Tc-Теоксимом эритроцитов.

Спленэктомию показана пациентам с верифицированным диагнозом рецидива АИГА, имеющих противопоказания к назначению глюкокортикоидов (сахарный диабет, остеопороз), острые формы гемолиза. Однако важно помнить, что после спленэктомии (максимум на 6-21 дни) может развиваться аспленический тромбоцитоз более 500-1800×10<sup>9</sup>/л, что является риском тромбозов портальной вены, печеночных вен, тромбоэмболии легочной артерии. Такое состояние требует профилактики антиагрегантами (аспирин по 100-150 мг/сут, клопидогрил по 75-150 мг/сутки), низкомолекулярными гепаринами (эноксапарин 60-80 мкг/сутки, фраксипарин по 0,1 мл/10 кг массы тела/сутки), иногда непрямыми пероральными антикоагулянтами (варфарин 2,5-7,5 мг/сут в зависимости от массы тела и МНО – лучше 2-3).

3. Третья линия терапии – моноклональные антитела (МКАТ) анти-CD20 – ритуксимаб. Препарат назначают в дозе 375 мг/м<sup>2</sup> в виде внутривенного введения с использованием дозатора (длительность инфузии 6-12 часов) 1 раз в неделю в течение 4 недель. Частота ремиссий достигает 55-80% (во второй или третьей линии терапии). Эффект терапии

наблюдается не только у пациентов с тепловыми агглютинами, но и с холодowymi антителами. При использовании МКАТ необходимо учитывать, что в инструкции по ритуксимабу показаний для лечения АИГА нет, и, следовательно, его назначение в каждом случае требует проведения консилиума врачей-экспертов. Эффективность данного вида терапии высока у больных, патогенез аутоиммунного процесса которых обусловлен проявлением В-клеточного лимфопрлиферативного заболевания. Эффективность терапии увеличивается в 1,5-2 раза при сочетании ритуксимаба с глюкокортикоидами.

4. Иммуносупрессивная и цитостатическая терапия может применяется у лиц пожилого возраста (первая и вторая линии терапии), а также у пациентов с рецидивирующими формами АИГА (третья или последующая линии терапии). Циклофосфамид назначается по 200 мг в день или по 400 мг через день (до 10 дней), суммарная доза препарата до 2000 мг. Азатиоприн применяют по 1-2,5 мг/сутки в течение длительного периода (4-6 месяцев). Иногда используют Циклоспорин А в дозе 5 мг/кг массы тела с последующей поддерживающей дозой 3 мг/кг (для поддержания концентрации препарата в плазме 200-400 нг/мл). Редко используют данозол в дозе 200 мг/сутки с последующим повышением дозы до 400 мг/сутки.

5. Внутривенные иммуноглобулины высоко эффективны и оказывают быстрый, но не продолжительный эффект (обычно до 2-3 недель). Назначают в дозе 0,4-2 г/кг/сутки (чаще в течение 2-5 дней, суммарная доза обычно составляет 2 г/кг).

6. Плазмаферез эффективен при холодовой гемоглиутининовой болезни, но процедуру проводят при температуре 37°C, иначе происходит агглютинация эритроцитов с ухудшением состояния больного.

Важно подчеркнуть, что при аутоиммунных гемолитических анемиях с холодowymi агглютинами эффективность глюкокортикоидной терапии значительно ниже, чем при АИГА с тепловыми антителами. Пациентам с холодowymi агглютинами более эффективно может быть терапия с применением ритуксимаба, плазмафереза, особенно в сочетании с иммунодепрессантами. В то же время, спленэктомия у этих больных практически эффекта не имеет.

Оценка ответа на терапию:

1) полная ремиссия (уровень гемоглобина > 120 г/л, ретикулоциты < 20%, нормальный уровень непрямого билирубина и ЛДГ в течение не менее 2-х месяцев);

2) частичная ремиссия (уровень гемоглобина > 100 г/л, ретикулоциты менее 2-х верхних границ нормы (< 25%), непрямо билирубин < 25 мкмоль/л);

3) отсутствие ответа на терапию констатируют в течение 1 месяца непрерывного лечения.

*Лечение гемолитического криза*

1. Для купирования гемолитического криза вво-

дят преднизолон в дозе 5-10 мг/кг (или метилпреднизолон 500 – 1000 мг) в/в капельно (в течение 1,5-2 часов). Таких курсов пульс-терапии обычно проводят 1-2, а в последующем переходят на пероральный прием преднизолона по 1,5-2,0 мг/кг/сут. По мере снижения уровня ретикулоцитов, билирубина и повышения содержания гемоглобина дозу преднизолона снижают по 5 мг в сутки до суточной дозы 30 мг. Затем снижение дозы производят более медленно по ¼ таблетки препарата (на 1,25 мг) в 5-7 дней до полной отмены.

2. Дезинтоксикационная и симптоматическая терапия (профилактика ОПН, ДВС-синдрома, по показаниям – антибактериальная терапия).

3. По жизненным показаниям – трансфузии отмытых эритроцитов, индивидуально подобранных по непрямой пробе Кумбса.

## **II. Аллоиммунные (изоиммунные) гемолитические анемии**

Аллоиммунные (синоним – изоиммунные) гемолитические анемии обусловлены антителами, синтезируемыми у реципиента или больного, которые направлены против антигенов чужеродных эритроцитов. Образование их происходит при попадании в организм реципиента чужеродного антигена эритроцита, например, Резус или Даффи и др. Наиболее характерно это для трансфузий донорской крови и ее эритроцитных компонентов не совместимых по эритроцитарным антигенам или при прохождении чужеродных антигенов через плаценту у беременной.

Подразделяют на следующие трансфузионные реакции:

- тяжелая трансфузионная реакция (Т80.3 – реакция на АВО-несовместимость),

- легкая трансфузионная реакция (Т80.4 – реакция на Rh-несовместимость),

- другие осложнения, связанные с инфузией, трансфузией и лечебной инъекцией (Т80.8),

- осложнения, связанные с инфузией, трансфузией и лечебной инъекцией неуточненные (Т80.9).

В клинической практике особое значение имеют тяжелые и легкие трансфузионные (гемолитические) реакции.

### **Тяжелая трансфузионная реакция (МКБ10 – Т80.3 – трансфузионная реакция на АВО несовместимость)**

*Характеристика*

Развитие тяжелых трансфузионных реакций обусловлено антителами класса IgM к эритроцитарным антигенам анти-А и анти-В и возникает при переливании несовместимой донорской крови по системе группы АВО.

*Патогенез*

В организме человека (реципиента) присутствуют естественные групповые антитела, которые появляются при рождении. Их образование не требует первичной встречи с антигенами чужеродных эри-

троцитов. Это антитела анти-А ( $\alpha$ -агглютинины) и анти-В ( $\beta$ -агглютинины), они относятся к иммуноглобулинам класса IgM, которые способны фиксировать комплемент, и являются полными антителами. Поэтому при переливании эритроцитов, несовместимых по антигенам системы АВО, происходит выраженная или тяжелая трансфузионная реакция внутри сосуда.

Иными словами, взаимодействие антител с эритроцитами запускает активацию системы комплемента с последующим внутрисосудистым гемолизом, который сопровождается выходом в плазму свободного гемоглобина и стромы эритроцитов, образованием метгемальбумина (коричневого пигмента), свободный гемоглобин выводится из организма почками, появляется гемоглинурия. При активации компонента комплемента высвобождаются анафилотоксины, которые вызывают нарушение проницаемости капилляров, вазодилатацию и гипотензию. Вазоконстрикция и присутствие в сосудистой сети почек клеточной стромы, покрытой антителами и микротромбами, приводят к острому тубулярному некрозу и почечной недостаточности. Кроме того, в процессе реакции образуются и иммунные комплексы, которые активируют внутренний путь свертывания крови через стимуляцию фактора Хагемана, строму эритроцитов, и/или путем высвобождения тромбопластических веществ из лейкоцитов и тромбоцитов. Исходом является развитие ДВС-синдрома, который характеризуется бурно нарастающей диффузной кровоточивостью или неконтролируемым кровотечением.

### *Клиническая картина*

Гемолитическая реакция сопровождается такими симптомами, как: 1) беспокойство, ощущение жара лица, 2) лихорадка, озноб (иногда потрясающий), тремор, 3) боль в груди, в животе, в спине, в поясничной области, 4) затруднение дыхания, 5) тахикардия, 6) акроцианоз, бледность. Реакция при трансфузии несовместимой крови по групповым антигенам АВО возникает, как правило, уже в момент проведения биологической пробы на введение первых 10-30 мл компонента и при правильном ее выполнении врач, проводивший трансфузию, тут же прекращает введение компонента и проводит мероприятия по оказанию медицинской помощи.

Однако нельзя забывать, что переливания эритроцитов нередко осуществляют и реципиентам, которые могут находиться либо в бессознательном состоянии (в сопоре или в коме), под наркозом в момент оперативного вмешательства, а также ранее получали кортикостероидную и иммуносупрессивную терапию. Поэтому клиническое проявление реакции несовместимости может возникнуть не на первые капли компонента, а при переливании компонента крови или в первые минуты после переливания, реже в течение 24 часов после трансфузии. В такой ситуации клиническая картина характери-

зуется такими симптомами, как: 1) беспокойство, лихорадка 39-40 $^{\circ}$ C с ознобом, 2) боли в груди, в животе, в спине, в поясничной области, 3) бледность, цианоз, желтуха, 4) затруднение дыхания, одышка, 5) тахикардия, гипотензия с падением артериального давления, 6) прогрессирующая олиго-/анурия, темная моча, 7) нарастающий геморрагический синдром – ДВС-синдром, 8) шок.

Прогноз зависит от титра антител к эритроцитарным антигенам А и/или В в сыворотке реципиента и объема перелитой эритроцитной взвеси.

### *Диагностика тяжелой трансфузионной реакции*

В сыворотке крови определяется повышение свободного гемоглобина (сыворотка может иметь алый цвет), увеличение непрямого билирубина, ретикулоцитоз, лейкоцитоз, нарастание анемии. В моче – гемоглинурия, позже – билирубинурия. При возникновении гемолитической трансфузионной реакции необходимо оставшуюся часть перелитого донорского эритроцитного компонента крови, а также образцы крови реципиента, взятые до и после трансфузии передать в организацию, которая заготовила и поставила компонент для проведения исследования на наличие антиэритроцитарных антител и маркеров гемотрансмиссивных инфекций.

### *Лечение*

При появлении признаков трансфузионной реакции необходимо:

- 1) немедленно прекратить переливание эритроцитного компонента (реакция может возникнуть уже во время проведения биологической пробы);
- 2) ввести внутривенно большие дозы кортикостероидов (120-180 мг преднизолона);
- 3) внутривенно – антигистаминные препараты (супрастин 20 мг или дифенгидрамин 20 мг);
- 4) инфузии реологических растворов (реополиглюкин, гидроксипропилкрахмал) для поддержания объема циркулирующей крови и компенсации потерь жидкости, а также с дезинтоксикационной целью для ускорения выведения свободного гемоглобина внутривенно вводят 0,9% раствор натрия хлорида 250-500 мл с контролем электролитного состава крови;
- 5) диуретики (лазикс 20-40 мг) – внутривенно для обеспечения форсированного диуреза. Петлевые диуретики способствуют также выведению ионов K<sup>+</sup>, что характерно для гемолиза. Для поддержания почечного кровотока и клубочковой фильтрации вводят маннитол сначала 20 г (например, 100 мл 20% раствора), затем со скоростью 10-15 мл/мин до 200 г (1 000 мл);
- 6) для профилактики ДВС-синдрома назначается нефракционированный гепарин по 5000 МЕ (подкожно или внутривенно) с повторным введением не реже 4 раз в сутки (лучше внутривенно капельно в течение суток из расчета по 1000 МЕ в час);
- 7) при ацидозе – внутривенно капельного 2% или 4% раствор натрия гидрокарбоната от 200-600 мл в



зависимости от лабораторных показателей (BE, pH);

8) при бронхоспазме – ингаляционно  $\beta_2$ -адреномиметики, например, 0,5-1,0 мл 0,5% раствора сальбутамола. Если бронхоспазм сохраняется, то назначают аминофиллин (эуфиллин), 4-6 мг/кг внутривенно медленно (!) в течение 10-20 мин или внутривенно капельно на 100-200 мл физиологического раствора, в дальнейшем возможна инфузия аминофиллина со скоростью 0,2-1,2 мг/кг/ч капельно или внутривенно медленно болюсно 4-5 мг/кг каждые 6 часов (суммарная суточная доза аминофиллина не должна превышать 20-24 мг/кг ввиду высокой аритмогенности препарата);

9) при артериальной гипотонии (снижении систолического давления ниже 50-60 мм рт.ст.) – 1 мл 0,1% раствора адреналина разводят в 10 мл физиологического раствора. Полученный раствор вводят под контролем АД внутривенно медленно в течение 5-10 мин. В дальнейшем приступают к длительной инфузии раствора адреналина: 1 мл раствора адреналина разводят в 250 мл 5% раствора глюкозы (концентрация полученного раствора адреналина 4 мкг/мл). При этом раствор начинают вводить со скоростью 1 мкг/мин, что составляет 4-8 капель/мин с возможным увеличением до 4 мкг/мин (16-20 кап/мин).

Если артериальную гипотонию и нарушения дыхания устранить не удастся, больного переводят в реанимационное отделение.

Для терапии анафилактической реакции требуется применение не только H1-, но и H2-гистаминовых блокаторов с целью прекращения гиперсекреции. Назначают циметидин в дозе 300 мг внутримышечно или внутривенно медленно, реже – внутрь каждые 6-8 часов, ранитидин – в дозе 50 мг внутримышечно или внутривенно медленно каждые 6-8 часов, или 150 мг внутрь каждые 12 часов, фамотидин (квamatел) по 20 мг внутривенно каждые 12 часов. При подозрении на бактериальное загрязнение перелитого эритроцитсодержащего компонента немедленно начинают антибактериальную терапию.

Обязательно отбирают пробы эритроцитарной взвеси и крови реципиента для микроскопии и посева. Пакет (контейнер) с эритроцитсодержащим компонентом не выбрасывают, а отправляют в отделение (станцию) переливания крови вместе с образцом крови реципиента для проведения пробы Кумбса, повторного определения антигенов систем ABO, Rh и индивидуальной совместимости. Проводят определение билирубина. После определения группы крови и проведения пробы на индивидуальную совместимость больному при необходимости переливают подобранную дозу донорских эритроцитов.

#### **Легкая трансфузионная реакция (МКБ10 – T80.4 – реакция на Rh-несовместимость)**

Легкие трансфузионные реакции обусловлены антителами к эритроцитным антигенам, не относя-

щимся к системе ABO. Эти антигены обладают меньшей антигенностью и, соответственно, меньшей способностью к гемолитическим реакциям. К ним относятся антигены системы Резус, Сс, еЕ, реже Kell, Duffy и другие.

#### *Патогенез*

В основе патогенеза лежит развитие внесосудистого гемолиза, т.е. разрушение эритроцитов происходит в тканях (внутриклеточно) при переливании несовместимой крови реципиентам, имеющим антитела, которые не фиксируют комплемент. В таких несовместимых реакциях обычно участвуют антитела класса IgG. Расстояние между концевыми участками (Fa фрагменты) иммуноглобулина G небольшое и они не могут соединить два эритроцита (не вызывают реакцию агглютинацию) из-за их высокого отрицательного заряда, поэтому их называют неполными антителами. Они являются иммунными антителами, а не естественными и, следовательно, в организме здорового человека они отсутствуют. Для образования этих антител требуется антигенная стимуляция, которая возможна 1) либо при переливании несовместимых эритроцитов, 2) либо у женщин после беременности, плод (ребенок) которой имел несовместимую группу крови. Например, у матери резус отрицательная группа, у ребенка – резус положительная; при дефекте фето-плацентарного барьера эритроциты плода попадают в кровоток матери, в результате чего и происходит образование иммунных антител.

При переливании донорских эритроцитов реципиенту, имеющему аллоантитела (анти- D (Rh), анти-С, анти-с, анти-Е, анти-е, анти-К, анти-S, анти- $\Gamma$ а, анти-М) к этим эритроцитам, в кровеносном русле происходит процесс адсорбции антител на несовместимых эритроцитах; при этом гемолиз не происходит, а комплемент не активируется. Внутриклеточной (внутриклеточный) гемолиз происходит за счет фагоцитоза, когда эритроциты с фиксированными на них антителами распознаются макрофагами селезенки и печени. В ходе гемолиза увеличивается уровень билирубина в крови с развитием желтухи.

Важно подчеркнуть, что при первой трансфузии эритроцитов несовместимой по Rh-фактору (антигену D или другому аллоантигену) образование антител наступает через несколько дней с постепенным нарастанием их титра. Поэтому в клинике реакция проявляется постепенно, чаще спустя 3-10 дней после переливания эритроцитов. Учитывая, что это антитела класса IgG и, чаще, носят характер неполных антител, то и характер гемолиза – внесосудистый с участием ретикулоэндотелиальной системы макрофагов селезенки и клеток Купфера печени. Однако при повторном переливании несовместимых донорских эритроцитов такому реципиенту, у которого иммунные аллоантитела уже находятся в крови, манифестация гемолиза может происходить

уже в процессе переливания или в течение первых часов после трансфузии. Клиническая же картина развивается более бурно, но не фатальна.

### *Клиническая картина*

При первичном переливании резус-несовместимых эритроцитов характерно постепенное (в течение 3-7 дней) нарастание утомляемости, может быть легкая одышка. Возможен незначительный озноб с субфебрилитетом. Очень редко бывает желтушность кожных покровов.

Более яркая картина наблюдается у пациентов, имеющих иммунные антитела в крови, образованных после перенесших трансфузию несовместимых эритроцитов ранее, а также у женщин, имевших в анамнезе беременность. Характерно нарастание утомляемости, легкая одышка, умеренный, реже выраженный озноб с субфебрильной или фебрильной температурой 37,5-38,5°C. Больные жалуются на боли в пояснице. Кожные покровы желтушные, склеры субиктеричны. Моча может быть темной, реже коричневого цвета.

### *Диагностика*

В гемограмме определяется анемия, микросфероцитоз; в биохимическом анализе крови гипербилирубинемия за счет непрямой фракции, снижение уровня гаптоглобина (альфа-глобулин, избирательно и прочно связывающий свободный гемоглобин через его белковую часть глобин в сыворотке). Учитывая, что легкие трансфузионные реакции развиваются через несколько дней после переливания донорских эритроцитов, выявить эритроцитные антигены донора невозможно (за этот период они полностью разрушаются). В диагностике аллоиммунных гемолитических анемий большую роль имеет проведение прямой и непрямой . проб Кумбса. Проба Кумбса позволяет выявить как фиксированные на эритроцитах реципиента (прямая проба, к эритроцитам реципиента добавляют лишь антиглобулиновую сыворотку, которая свяжет Fc-фрагменты антител), так и свободные аллоантитела (непрямая проба, в сыворотку реципиента добавляют специфичные определенной группы эритроциты, а затем – антиглобулиновую сыворотку), находящиеся в сыворотке реципиента к определенному антигену эритроцитов.

### *Лечение*

Легкая трансфузионная реакция при «первичном» переливании обычно лечения не требует. Может потребоваться симптоматическая терапия, включающая инфузионную и кортикостероидную терапию. Но при повторной трансфузии донорских эритроцитов, имеющих несовместимый слабый эритроцитный антиген, в случае развития клиники значимого острого гемолиза может потребоваться терапия с назначением глюкокортикоидов, антигистаминных препаратов, назначения инфузионной терапии с дезинтоксикационной целью, а также профилактика ДВС-синдрома.

### *Профилактика*

В дальнейшем, чтобы не допустить повторной гемолитической реакции, для переливания используют эритроцитные компоненты крови, не содержащие антигены, вызвавшие трансфузионную реакцию, т.е. по индивидуальному подбору. Сыворотка крови реципиента исследуется на наличие аллоантител.

## **III. Трансиммунные гемолитические анемии**

### *Характеристика*

К трансиммунным ГА относят такие варианты анемии, при которых гемолиз происходит в результате разрушения собственных эритроцитов пациента не своими антителами, а полученными от другого человека. Наиболее демонстративным является вариант трансиммунной гемолитической анемии – гемолитическая болезнь новорожденного: антитела образуются в организме беременной после попадания антигенов эритроцитов плода в кровоток беременной (или роженицы), но в последующем проходят через фетоплацентарный барьер и попадают в кровоток плода (ребенка) и вызывают гемолиз.

Важно подчеркнуть, что обычно через здоровую плаценту от матери к плоду могут проходить лишь молекулы с небольшой массой, например, вода, соли, глюкоза, аминокислоты, витамины, в то время как крупномолекулярные соединения, клетки крови не проходят. Поэтому и мать, и плод друг от друга довольно эффективно отграничены и их антигены (например, эритроцитарные) не обмениваются. Однако в течение периода беременности могут возникать плацентиты, травматические повреждения плаценты с дефектом фетоплацентарного барьера, при котором даже в небольшом количестве антигены плода (эритроцитарные) могут попадать в кровоток матери, вызывая иммунную реакцию с образованием аллоантител в ее организме. Иными словами, это материнские антитела, которые образуются против антигенов эритроцитов ребенка (плода) отличных от материнских, и для матери они являются аллоантителами совершенно для ее эритроцитов безопасные. Эти антитела являются иммунными антителами класса IgG. Размер их молекулы не достаточно велик, следовательно, они могут проходить через плаценту, в отличие от естественных антител класса IgM, которые присутствуют в крови лиц с группой крови O(I), A(II) или B(III).

При прохождении иммунных аллоантител IgG через плаценту от матери в кровоток плода (или новорожденного) эти иммунные антитела будут называться трансиммунными. Т.е. трансиммунными антителами называются антитела, которые вырабатываются не в организме реципиента (плода), а в организме матери (донора), но, попадая в кровоток плода, они становятся трансиммунными, при их высоком их титре могут приводить к возникновению гемолитической реакции с развитием гемолитической болезни плода и новорожденного (ГБН).

## Гемолитическая болезнь плода и новорожденного

### Определение

Гемолитическая болезнь плода и новорожденного – это изоиммунная (вариант трансиммунной) гемолитическая анемия, возникающая в случаях несовместимости крови матери и плода по эритроцитарным антигенам, при этом антиген локализуется на эритроцитах плода, а антитела, вырабатываемые на эти антигены, – синтезируются в организме матери (беременной).

По МКБ-10 подразделяют на следующие варианты:

- P55.0 – резус-иммунизация плода и новорожденного,
- P55.1 – АВО-иммунизация плода и новорожденного,
- P55.8 – другие формы гемолитической болезни плода и новорожденного,
- P55.9 – гемолитическая болезнь плода и новорожденного неуточненная.

### Эпидемиология

ГБН в Российской Федерации диагностируется у 0,6% новорожденных. Однако 95% клинически значимых случаев заболевания приходится на несовместимость по Rh-фактору, из которых у 90% развивается по антигену D, и около 10% – по антигенам Cc и Ee. В то же время лишь 5% случаев ГБН имеют природу несовместимости по системе АВО. По другим антигенным системам (Kell, Duffy, Lutheran, MNS, Xg, Diego, Kidd и т.д.) встречается очень редко, менее 1%, и их часто относят к другим формам гемолитической болезни или неуточненным (код МКБ – P55.8 или P55.9).

У лиц белой расы ГБН из-за несовместимости по резус-фактору встречается в 3 раза чаще, чем у черной, что, вероятно, связано с более частым присутствием на эритроцитах антигена D (антиген D отсутствует у 15% лиц белой расы и у 7% черной).

### Патогенез

Гемолитическая болезнь плода и новорожденного развивается чаще при несовместимости матери и плода по антигенам систем Rh и АВО, гораздо реже – по антигенам систем Kell, Duffy, Lutheran, Kidd и др. и приводит к разрушению эритроцитов (гемолизу) ребенка. Выработка аллоантител к антигенам системы Rh (в отличие от антител к антигенам системы группы АВО) происходит при попадании только этого антигена эритроцитов в кровь беременной (матери). При этом у нее должна быть группа крови резус-отрицательная, а у плода – резус-положительная. Если беременность протекает нормально, то количество эритроцитов плода, проникших в кровь беременной, слишком мало и иммунизации не происходит. Достаточное для иммунизации количество крови плода может попасть в кровь матери (беременной) при нормальном течении беременности лишь в третьем периоде или во время родов.

Тем не менее, при первой беременности ГБН, обусловленная несовместимостью по антигенам системы Резус, возникает только в таких случаях, если: 1) беременной (матери) раньше переливали эритроцитсодержащие компоненты крови, несовместимые по антигенам системы Rh, 2) беременная была иммунизирована во время диагностического амниоцентеза, а также при 3) фето-материнском кровотечении, 4) ретроплацентарной гематоме, 5) предлежании плаценты. При повторной беременности иммунизация могла произойти у женщины после аборта или второй и последующей беременности. Аллоиммунизация, как правило, возникает вследствие пассажа (прохождения) через плаценту эритроцитов плода в циркулирующую кровь матери. Обычно это происходит в последние 8 недель беременности и для первичной иммунизации достаточно попадание 0,1 мл фетальной крови при резус-несовместимости, и около 1 мл крови при других групповых различиях крови. Иммунизация с выработкой аллоантител происходит в течение 3-4 недель, причем антитела могут даже не определяться, клинических проявлений может не быть. Но уже вторичная иммунизация при попадании в организм матери того же антигена (при повторной беременности) значительно увеличивает риски гемолитической болезни новорожденного, вплоть до развития ее отечной формы (анасарки) и гибели плода или новорожденного. Важно подчеркнуть, что наиболее тяжелые формы ГБН наблюдаются при D или Kell-несовместимости.

Есть отличие в механизме развития ГБН при несовместимости по антигенам системы АВО. Дело в том, что в крови матери уже имеются естественные антитела класса IgM, и при попадании чужеродных (плодных) эритроцитов к ней в кровотоки они тут же происходит их разрушение (внутрисосудистый гемолиз), поэтому чужеродных антигенов -А, -В для стимуляции иммунного ответа остается очень мало. Следовательно, выработка иммунных аллоантител (класса IgG) в организме матери хоть и происходит, но титр их низкий и клинического значения часто не имеют.

Важно иметь в виду, что несовместимость по системе АВО может возникать даже во время первой беременности. ГБН, вызванная несовместимостью по антигенам системы АВО, обычно встречается, если у плода (новорожденного) группа крови А(II) или В(III), реже АВ(IV), рожденных матерями с группой крови О(I). В сыворотке беременной (матери) с группой крови О(I) выявляются не только естественные антитела класса IgM, но и иммунные аллоантитела класса IgG – анти-А, реже – анти-В. Предсказать развитие гемолитической болезни новорожденного по титру этих антител у матери крайне сложно.

### Клиническая картина

Проявления ГБН зависят от уровня сенсибилизации матери и титра антител. Заболевание может

протекать от легких лабораторных признаков гемолиза без клинических проявлений до тяжелой анемии с компенсаторной гиперплазией эритропоэтической ткани, приводящей к гепатоспленомегалии. Если компенсаторные возможности кроветворения исчерпаны, развивается гипорегенераторная тяжелая анемия с резкой бледностью, сердечной недостаточностью (кардиомегалия, дыхательные расстройства), массивными отеками, падением артериального давления.

**Клинические формы ГБН принято подразделять на анемическую, желтушную и отечную.**

### *1. Анемическая форма*

Наиболее распространенная и легкая по течению и курации форма заболевания – анемическая. При рождении отмечается бледность кожных покровов, вялость, плохое сосание груди, приглушенность тонов сердца, систолический шум, может быть увеличена печень +2,5-3,0 см (норма до +2 см) и селезенка +1,0-3,0 см ниже края реберной дуги. Гемоглобин обычно не снижается ниже 100 г/л.

### *2. Желтушная форма*

Часто встречающаяся форма. Характеризуется ранним появлением желтухи (при рождении или на первых часах жизни – в норме желтуха новорожденных появляется на 3-4 дни после рождения), бледностью кожных покровов и слизистых оболочек, умеренным, увеличением печени и селезенки. Новорожденные плохо сосут грудь, капризны. При биохимическом исследовании крови выявляется значительная гипербилирубинемия, имеющая тенденцию к быстрому росту. Высокие цифры непрямого (токсического) билирубина особенно опасны для недоношенного (более 170 мкмоль/л) и несколько меньше – для новорожденного (более 380 мкмоль/л) ребенка. Эффект непрямого билирубина обусловлен токсическим повреждением ядер головного мозга с риском развития ядерной желтухи (билирубиновой энцефалопатии), сопровождающейся симптомами поражения нервной системы в виде нистагма, судорогами, опистотонусом.

По степени тяжести желтушную форму ГБН подразделяют на:

1 степень – легкое течение: желтуха появляется в конце 1-х суток, печень +2,0-2,5 см, селезенка +0,5-1,0 см; билирубин пуповинной крови <50 мкмоль/л, почасовой прирост билирубина в крови новорожденного не превышает 5 мкмоль/л;

2 степень – среднетяжелое течение: желтуха заметна при рождении или появляется в первые часы жизни, печень +2,5-3,0 см, селезенка +1,0-1,5 см; билирубин пуповинной крови > 50 мкмоль/л, прирост почасового билирубина в крови новорожденного > 6-10 мкмоль/л.

3 степень – тяжелое течение: желтуха интенсивная, возникшая уже при рождении, печень более +3,0 см, селезенка более + 3 см, общая пастозность, возможно наличие геморрагий.

При рождении желтухи у ребенка может не быть, так как жирорастворимый неконъюгированный билирубин выводится через плаценту, но в тяжелых случаях имеется окрашивание околоплодных вод, плаценты и первородной смазки билирубином.

### *3. Отечная форма*

Тяжелое осложнение гемолитической болезни плода и новорожденного. Характеризуется следующими проявлениями: 1) водянка плода (скопление трансудата в двух и более пространствах: кожа, плевральная полость, перикард, плацента, брюшная полость, плодный пузырь), которая может привести к гибели плода внутриутробно или сразу после рождения; 2) экстремедулярное (печеночное) кроветворение; 3) застой в печени (вследствие сдавления кроветворными клетками и отеком интерстиция внутрипеченочных сосудов с последующим развитием венозного стаза и портальной гипертензии); 4) печеночная недостаточность (из-за дистрофии гепатоцитов: ослабление синтетической функции печени, в том числе альбумина, усиление отеочного синдрома, нарушение синтеза факторов свертывания); 5) геморрагический синдром (печеночная недостаточность сопровождается дефицитом факторов свертывания, ДВС-синдром и угнетение тромбоцитопоэза).

При водянке плода характерна тяжелая анемия с уровнем гемоглобина даже ниже 50 г/л. Вследствие отека легких, плеврального выпота может отсутствовать самостоятельное дыхание. В тяжелых случаях наблюдается геморрагическая сыпь вследствие угнетения тромбоцитопоэза и диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

Гемолиз у новорожденного при несовместимости по антигенам системы ABO выражен значительно слабее, чем при несовместимости по антигенам системы Rh. Однако может наблюдаться средняя и тяжелая гипербилирубинемия. Также важно подчеркнуть, что при выраженном гемолизе по группе Kell гемолитическая болезнь может протекать тяжело, вследствие отсутствия специфического иммуноглобулина анти-келл.

### *Диагностика*

На ранних сроках беременности определяют групповую (по системе ABO) и Rh принадлежность крови беременной, а также исследуют ее сыворотку на наличие иммунных антител к редким антигенам эритроцитов. Если мать резус-отрицательная, то определяют резус-принадлежность отца ребенка. Во время беременности необходимо регулярно определять тип антирезусных аллоантител. При появлении антирезусных антител у плода оценивают интенсивность гемолиза, путем проведения спектрофотометрического анализа околоплодных вод, получаемых при амниоцентезе. После рождения у новорожденного определяют содержание гемоглобина и уровень билирубина в пуповинной крови. Проводят прямую пробу Кумбса с эритроцитами новорожденного. При положительной пробе Кумбса

необходимо определить, к каким антигенам эритроцитов направлены выявленные антитела, так как антитела могут быть направлены не только к антигену D, но и к антигенам A, B, E, C, Kell и другим.

Исследование мазка крови новорожденного позволяет выявить сфероциты, фрагментированные эритроциты. Прямая проба Кумбса с эритроцитами новорожденного часто отрицательная или слабо положительная, поскольку эритроциты несут незначительное количество антигенов A и B, а чувствительность пробы невысока. Для этого ставят реакцию: антитела, смытые с эритроцитов новорожденного, переносят в пробу с эритроцитами взрослых с группами крови A(II) и AB(IV) и анализируют протекание реакции. Кроме того, в анализах крови новорожденного отмечается снижение гемоглобина (анемия) и повышение содержания непрямого билирубина часто выше 200 мкмоль/л.

#### *Дифференциальная диагностика*

Необходимо дифференцировать с гепатитом, анемией при проникновении крови от плода к матери, наследственной анемией, связанной с дефицитом Г-6-ФДГ. При вирусных гепатитах в анализах крови определяют повышение как прямой, так и непрямой фракций билирубина, АсАТ, АлАТ. При гепатите А диагностически значимым считается четырехкратное повышение титра противовирусных антител в течение 4-х недель. Комплексное определение антигенов вируса гепатита В и антител к ним позволяет поставить диагноз, определить стадию заболевания, оценить риск заражения и иммунный ответ. При гепатите С определяют антитела к вирусу гепатита С. Их обычно удается выявить не ранее, чем через 3 месяца после начала заболевания, когда начинает снижаться активность АсАТ, АлАТ.

При попадании крови от плода к матери у плода наблюдается либо нормохромная, либо гипохромная анемия, ретикулоцитоз, но содержание билирубина нормальное.

Гемолитическую болезнь новорожденных, вызванную несовместимостью по антигенам системы ABO, бывает трудно отличить от наследственного микросфероцитоза. Иногда помогает метод кислотных эритрограмм. Но основной метод – это выявление иммунных антител у матери в крови и/или в грудном молоке (молозиве).

#### *Лечебная тактика при гемолитической болезни новорожденных*

Основной целью терапии ГБН является: 1) предотвращение антенатальной гибели плода или летального исхода новорожденного; 2) уменьшение нейротоксического эффекта свободного билирубина.

*I. В период беременности* (внутриутробный период развития плода) проводят ряд исследований: 1) при несовместимости матери и плода (при подозрении на ГБН) исследуют титр антирезусных антител у матери. Если он повышается до 1:8 и выше, то проводят амниоцентез; 2) для косвенного определения

уровня билирубина и оценки тяжести гемолиза измеряют оптическую плотность околоплодных вод при длине волны 450 нм. Высокая оптическая плотность околоплодных вод в середине и в конце беременности указывает на тяжелый гемолиз у плода; 3) при подозрении на тяжелый гемолиз проводится анализ крови плода, которую получают при кордоцентезе. Если гематокрит плацентарной крови составляет  $\leq 18\%$ , показано внутриутробное переливание эритроцитарной взвеси O(I) Rh-минус группы крови. При необходимости переливание повторяют каждые 2-3 недели.

Если развитие плода соответствует гестационному возрасту, то проводится родоразрешение на 33-36-й неделе беременности методом кесарева сечения.

*II. В послеродовом периоде* сразу после родоразрешения у новорожденного определяют его группу крови и проводят прямую пробу Кумбса. Важно подчеркнуть, что у новорожденного группа крови после внутриутробного переливания эритроцитов может нести одновременно два фенотипа или даже стать резус-отрицательной – это донорские эритроциты. Если прямая проба Кумбса у новорожденного положительная (присутствуют антитела), то может потребоваться заменное переливание крови (ЗПК).

При гипербилирубинемии (желтухе новорожденных) применяют два основных метода лечения: 1) фототерапию (светолечение) и 2) заменное переливание крови. Кроме того, часто требуется проведение симптоматической и инфузионной терапии.

*1. Фототерапия.* Механизм фототерапии заключается в способности молекул токсичного (непрямого, т.е. несвязанного с глюкуроновой кислотой) билирубина изменять химическую структуру и связанные с ней физико-химические свойства молекулы от воздействия световой энергии. Непрямой билирубин поглощает световую энергию преимущественно в синем спектре видимого света (длина волны  $\lambda=450-460$  нм). Под действием света, направленного на открытые участки кожи, в коже токсичные формы непрямого билирубина превращаются в менее токсичные (около 15% люмибилирубина и 85% водорастворимых изомеров непрямого билирубина), которые хорошо выводятся из организма с мочой. Длительность терапии составляет от 12-24 часов до нескольких суток (иногда 7-14 суток), далее тактика лечения определяется в зависимости от уровня общего билирубина и массы тела новорожденного ребенка (таблица 2). При этом для предупреждения повреждения сетчатки глаз ребенка во время фототерапии, глаза новорожденного закрывают повязкой. Светолечение снижает потребность в ЗПК, которое в настоящее время проводят лишь одному из 3000 новорожденных с ГБН, например, вызванной несовместимостью по антигенам системы ABO.

**Показания для фототерапии и заменного переливания крови у новорожденных 1-7 суток жизни в зависимости от массы тела при рождении**

Масса тела (г)	Показания в зависимости от уровня общего билирубина (мкмоль/л)	
	Фототерапия	Заменное переливание крови
До 1500	85-140	220-275
1501-2000	140-200	275-300
2001-2500	190-240	300-340
Более 2500	255-295	340-375

2. Заменное переливание крови показано при водянке плода (новорожденного): у доношенных новорожденных детей проводят однократное замещение ОЦК, если уровень билирубина выше 200 мкмоль/л. У недоношенных детей проводят двухкратное замещение ОЦК, если уровень билирубина более 100-150 мкмоль/л. По групповой принадлежности компонентов крови используют следующим образом:

1) при изолированном резус-конфликте переливают Rh-отрицательную одногруппную с кровью ребенка эритроцитную взвесь и свежзамороженную плазму карантинизированную (СЗПК), хотя возможно применение плазмы АВ(IV) группы крови;

2) при изолированном групповом по АВО-конфликте назначают эритроцитную взвесь O(I) группы, совпадающую по резус-фактору с эритроцитами ребенка и одногруппную или АВ(IV) СЗПК. Общий объем гемокомпонентов составляет 160-180 мл/кг массы новорожденного в соотношении эритроциты к плазме 2:1;

3) при одновременной (или вероятной) несовместимости по резусу и системе АВО, для заменного переливания крови используют резус-отрицательную эритроцитную взвесь O(I) группы крови и одногруппную или АВ (IV) плазму;

4) при гемолитической болезни новорожденного с показателем по редким группам (факторам) крови используют донорскую кровь, не имеющую «конфликтного» антигена эритроцитов. При тяжелой анемии, обусловленной ГБН, проводят более раннее заменное переливание крови. Также при анемии с уровнем гемоглобина ниже 70-100 г/л после внутриутробного или ранее проведенного ЗПК может потребоваться переливание эритроцитарной взвеси повторно.

Необходимо отметить, что применение плазмафереза с одномоментным удалением 50% объема плазмы и замещением свежзамороженной донорской плазмой также эффективно.

3. В качестве симптоматической и инфузионной терапии нередко назначают внутривенное капельное введение 5% раствора глюкозы, фенобарбитал. При выраженной гипоальбуминемии – раствор 10% альбумина. При судорожном синдроме – противосудорожные препараты. При геморрагическом синдро-

ме может потребоваться переливание одногруппной СЗПК.

*Профилактика*

После выписки из стационара ребенок наблюдается педиатром (неонатологом), неврологом; ежемесячно проводится контроль гемограммы. Проведение профилактических прививок разрешают после 6-и месячного возраста ребенка.

Важным профилактическим мероприятием является пассивная иммунизация матери. Риск иммунизации антигенами системы резус значительно снижается, если резус-отрицательной женщине вводят анти-RhO(D)-иммуноглобулин. Первый раз его назначают в конце II-го триместра беременности, второй раз – в первые 72 ч после рождения резус-положительного ребенка. Кроме того, анти-RhO(D)-иммуноглобулин рекомендуется вводить после аборта, после амниоцентеза. Одна ампула анти-RhO(D)-иммуноглобулина (содержит 300 мкг) нейтрализует порядка 15 мл резус-положительной крови плода. Если подозревается, что в кровь матери попал большой объем крови плода, то вводят соответствующую дозу анти-RhO(D)-иммуноглобулина после исследования мазка по Клейхауэр-Бетке (для выделения эритроцитов плода в крови матери).

**IV. Гетероиммунные гемолитические анемии**

Характеристика. Гетероиммунные ГА возникают при изменении антигенной системы эритроцита вследствие фиксации на его поверхности гаптена лекарственного, вирусного или бактериального происхождения. Гаптен фиксируется на мембране эритроците, вследствие чего она претерпевает изменение, превращаясь в новый антиген, и собственные иммунокомпетентные клетки его распознают как «чужой». На такой новый антиген-гаптен организм вырабатывает антитела. Эритроцит в этом случае является органом-мишенью для антител. Антитела по своей структуре и механизму гемолиза аналогичны, как при аутоиммунной гемолитической анемии с неполными тепловыми агглютинами и относятся к классу IgG.

В качестве гаптена при гетероиммунной ГА из лекарственных средств могут быть антибиотики (пенициллины, цефалоспорины, тетрациклины), суль-

фаниламиды, противотуберкулезные препараты (ПАСК, изониазид), антидиабетические препараты (толбутамид), некоторые диуретики (гидрохлортиазид), противомалярийные препараты (хинин), антиаритмические средства (хинидин, прокаинамид), гипотензивные средства (метилдопа), противопаркинсонические средства (леводопа), нестероидные противовоспалительные средства (диклофенак, ибупрофен), нейролептики (тиропридазин), интерферон альфа и другие.

Лечебный эффект достигается элиминацией гаптена, т.е. путем полной отмены лекарственного препарата или санации очага инфекции, обусловившего развитие гемолитической анемии. При тяжелой анемии могут назначаться кортикостероидные гормональные препараты, аналогично при АИГА. По жизненным показаниям могут применяться трансфузии эритроцитов.

#### **V. Аутоиммунные ГА с антителами против антигена эритробласта с развитием парциальной красноклеточной аплазии**

Парциально красноклеточную аплазию зарубежными авторами, предложенную в 1993 г. Wintrobe и Darry M. Williams и модифицированную в 2013 г. J. Lipton и соавт., выделяются три формы: врожденная ПККА – анемия Даймонда–Блекфана, приобретенная, вторичная (как синдром заболевания). В нашей стране используется классификация 1997 г., в которой выделено 5 форм.

1. Идиопатическая у взрослых.
2. Врожденная форма – анемия Даймонда–Блекфана
3. Аутоиммунная гемолитическая анемия, протекающая как ПККА (АИГА-ПККА):
  - а) первичная,
  - б) симптоматическая при: ревматоидном артрите, системной красной волчанке, тиреоидите, микротромбоваскулите, острых лейкозах.
4. Сочетанная с М-градиентом у взрослых.
5. Симптоматическая при:
  - Миелопролиферативном синдроме без Ph-хромосомы
  - 5q- синдроме
  - Острых лейкозах
  - Хроническом миелолейкозе
  - Хроническом моноцитарном лейкозе
  - Лимфопролиферативных заболеваниях, включая лейкоз из больших гранулированных лимфоцитов
  - Тимоме
  - Парвовирусе В19
  - пернициозной анемии (дефицит В12 и фолиевой кислоты),
  - солидных опухолях,
  - авитаминозе В2 (снижение рибофлавина),

У больных ХПН, применявших рекомбинантный эритропоэтин (антитела против эритропоэтина) или прервавших лечение эпоэтином также может наблюдаться ПККА.

Если у пациента выявляется ПККА, то ее необходимо четко разделить – является она идиопатической, врожденной или симптоматической, т.е. синдромом какого-то заболевания.

#### **В данном разделе детально рассмотрим приобретенную чистую красноклеточную аплазию неуточненную (код МКБ-D60.9).**

##### *Характеристика*

ПККА – это тяжелая нормохромная анемия с низким уровнем ретикулоцитов, отсутствием или резким снижением количества ядросодержащих эритроидных элементов в костном мозге без его общей гипоплазии, потребностью в трансфузиях эритроцитов и частым осложнением в виде перегрузки организма железом и гемосидерозом внутренних органов. ПККА в идиопатической форме выступает как самостоятельное заболевание, в симптоматической форме – как синдром и сочетается с другими заболеваниями.

##### *Этиопатогенез*

Этиология до конца не изучена. Генез заболевания иммунный: а) у части пациентов обнаруживают антитела, относящиеся к IgG, фиксирующиеся на ядре эритробластов / нормобластов и оказывающие цитотоксический эффект на так межвидовой антиген эритробластов, приводя к полной аплазии эритроидного роста; б) у некоторых больных в плазме обнаруживаются антитела класса IgG к гормону эритропоэтину (ингибитор эритропоэтина); в) могут выявляться и антиэритроцитарные аутоантитела анти-Rp специфичности, приводящие к гемолизу эритроцитов.

##### *Клиника*

Жалобы на повышенную утомляемость, головокружение, сонливость, нарастающую слабость, сердцебиение, одышку при незначительных физических нагрузках; пациенты отмечают отеки стоп, пастозность голеней к концу дня, что типично для анемии. Уровень гемоглобина у таких пациентов определяется около 50-60 г/л или меньше. В основном заболевание начинается исподволь, без бурных симптомов острой патологии, без убедительной связи с наследственностью, с внешним фактором, с другим заболеванием или с лекарственным препаратом. Кожные покровы и видимые слизистые бледные. Аускультативно выслушивается шум волчка, на верхушке сердца – систолический шум. Печень, селезенка не увеличены, геморрагический синдром отсутствует.

Нередко еще до установления диагноза пациентам назначалось лечение, которое состояло из трансфузий донорских эритроцитов, часто назначались препараты железа внутрь, иногда – внутривенно, витамины группы В, С, препараты эритропоэтина, глюкокортикоидных гормонов. Важно отметить, что течение заболевания торпидное, у больных выраженная зависимость от трансфузий эритроцитов, приводящая к прогрессированию перегрузки организма железом. При развитии гемосидероза внутренних органов кожные покровы бледные с дымчато-серым оттенком, увеличение размеров печени, печеночная

недостаточность. Могут развиваться эндокринная недостаточность в виде сахарного диабета, иммунная недостаточность с частыми инфекциями, а также сердечная недостаточность, аритмии сердца.

### *Диагностика*

В гемограмме – глубокая рефрактерная нормохромная анемия, ретикулоцитопения (<1%); число тромбоцитов в пределах нормы, лейкоциты в норме или снижено, лейкоцитарная формула нормальная или выявляется ее сдвиг влево до миелоцитов. В миелограмме – отсутствуют эритро- и нормобласты (<5%, но часто 0,1-0,5%, при норме 14-26%) при сохранности остальных ростков кроветворения и общей клеточности костного мозга. При окраске пунктата по Перлсу выявляются повышенное содержание сидеробластов костного мозга. Исследование трепанобиопсии из подвздошной кости – костный мозг клеточный (гипоплазия обычно не выявляется), с нормальным соотношением жировой ткани и клеток костного мозга, но резко сужен (<5%) или отсутствует эритроидный ряд. Иммунологическое исследование клеток костного мозга – обнаружение аутоантител к эритрокарицитам (к клеткам костного мозга).

Содержание железа в органах и сыворотке крови увеличено, увеличен также и сывороточный ферритин. Важно оценить уровень сывороточного эритропоэтина, который должен компенсаторно быть резко увеличенным. Прямая проба Кумбса, как правило, отрицательная. Однако, для подтверждения диагноза идиопатической ПККА помогает определение с помощью агрегат-гемагглютинационной пробы аутоантитела класса IgA, реже IgG, или оба класса одновременно, которые направлены к Pr1d-антигену эритроцитов.

### *Дифференциальная диагностика*

Дифференциальную диагностику проводят ПККА, которая является синдром при тимоме, для которой наряду с рефрактерной анемией, ретикулоцитопенией, эритробластопенией отмечается миастенический синдром (диплопия, мышечная слабость, затруднение глотания и жевания, гнусавость голоса); может быть выражен синдром медиастинальной компрессии или синдром верхней полой вены (одышка, цианоз, отек области шеи, груди, набухание яремных вен). В диагностике тимомы помогает рентгенография, МРТ, КТ органов грудной клетки, ПЭТ-КТ позволяющие выявить затемнение переднего средостения, гиперплазию тимуса; но основным методом диагностики является иммуногистохимическое исследование биоптата тимуса. При врожденной анемии Даймонда-Блекфена заболевание проявляется только у детей раннего возраста (от 1 мес. до 1 года), часто – у недоношенных. Миелограмма характеризуется аплазией эритробластного ростка, в гемограмме – анемия, ретикулоцитопения; при этом не выявляются

аутоантитела к эритробластам. При специфическом поражении красного ростка костного мозга парвовирусом В19, относящемся к РНК вирусной инфекции и передающейся воздушно-капельным путем, заболевание проявляется признаками ОРВИ, может сопровождаться лихорадкой. У больных характерна умеренная нормохромная гипо- или арегенераторная анемия. В течение 21 дня вырабатываются антитела к вирусу, и он элиминируется. Парвовирус опасен для больных врожденной ГА (Минковского-Шофара, серповидно-клеточная анемия и др.), так как вызывает апластический криз. Для диагностики парвовирусной инфекции помогает определение антител к вирусу В19, а также характерные в пунктате костного мозга гигантские эритробласты.

### *Лечение*

1. Если выявлена причина приведшая к развитию ПККА, то ее лечение может быть наиболее эффективно для устранения синдрома парциальной красноклеточной аплазии. В частности, при диагностике тимомы – ее удаление.

2. При диагностике парвовирусной инфекции наиболее оправдано будет назначение внутривенных иммуноглобулинов, обычно в дозе 5-10 г/сутки на протяжении 7-14 дней.

3. Если предполагается иммунный генез, то положительный эффект можно получить, назначая преднизолон по 60 мг внутрь длительностью 2-3 недели с постепенной отменой препарата. На такой дозе эффективность обычно составляет 40%.

4. При неэффективности терапии гормональными препаратами может быть назначен циклоспорин А в начальной дозе 5 мг/кг/сут. с последующим снижением до 3 мг/кг/сут. Длительность терапии до 6 мес. При непереносимости или неэффективности циклоспорина – азатиоприн.

Основным методом заместительной терапии для компенсации анемии - трансфузии донорских эритроцитов, которые оптимально подбирать по индивидуальному подбору. Учитывая, что некоторые пациенты получили множественные трансфузии (более 20 доз), им необходимо назначить хелаторную терапию при повышении ферритина более 1000 нг/мл. В настоящее время применяются препараты деферазирокс в дозе 20-40 мг/кг внутрь с периодическим контролем уровня сывороточного ферритина.

### *Прогноз*

У 15% пациентов может возникнуть спонтанная ремиссия, 65% больных отвечают на иммуносупрессивную терапию. При этом в 50% случаев возникает рецидив заболевания, 80% которых дают положительный ответ на повторную терапию. Важно также отметить, что небольшая доля пациентов прогрессирует с исходом в апластическую анемию или острый миелоидный лейкоз.



**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. В 2-х томах. Том 1. - М.: Практика, 2018. – 1008 с.
2. Анемии. Клиника, диагностика и лечение / Стуклов Н.И., Альпидовский В.К., Огурцов П.П. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2013. – 264 с.
3. Анемии. Краткое руководство для практических врачей всех специальностей / под ред. О.А. Рукавицына 2-е издание, переработанное и дополненное. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 352 с.
4. Клинические рекомендации по диагностике и лечению аутоиммунной гемолитической анемии (АИГА) у взрослых/ Национальное гематологическое общество. М.: 2018. – 22 с. [Электронный ресурс] [https://npngo.ru/uploads/media\\_document/291/84cbcae5b-518f-4a7d-b081-88f7fbb016fc.pdf](https://npngo.ru/uploads/media_document/291/84cbcae5b-518f-4a7d-b081-88f7fbb016fc.pdf) (дата обращения 02.03.23).
5. Минеева Н.В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии. – Издательско-Полиграфический комплекс «Гангут», 2020. – 360 с.
6. Петренко А.А., Пивник А.В., Дудина Г.А., Дубницкая М.Г. Парциальная красноклеточная аплазия костного мозга в сочетании с тимомой. Обзор литературы и собственные данные// Тер. Архив. – 2019. - №7. – С. 121-126. (doi: 10.26442/00403660.2019.07.000326)
7. Романенко Н.А., Бессмельцев С.С., Чечеткин А.В. Коррекция иммунного статуса пациентов иммуноглобулином человека для внутривенного введения// Каз.мед.журнал. – 2017. – Т. ХСVIII, №5. – С. 775-783.
8. Рациональная фармакотерапия в гематологии / под ред. профессора О.А. Рукавицына. – Москва: Литера, 2021. – 784 с.
9. Романенко Н.А. Наследственные гемолитические анемии. Энзимопатии. Гемоглобинопатии (лекция) Часть 2 // Вестник гематологии, 2022. – Т. XVIII, №3. – с. 40-59.
10. Романенко Н.А. Наследственные гемолитические анемии. Мембранопатии (Лекция) Часть 1// Вестник гематологии. 2022. – Т. XVIII, №1. – С. 25-33.
11. Солдатенков В.Е., Чечеткин А.В., Минеева Н.В. и др. Клинико-лабораторная диагностика реакций и осложнений, связанных с трансфузией донорской крови и ее компонентов, в учреждениях здравоохранения: Методические рекомендации. – СПб., 2020. – Агентство «Витпринт», 2020. – 40 с.
12. Шабалов Н. П. Неонатология: в 2 т. Том 1: учебное пособие – 6-е изд. испр. и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 704 с.
13. Provan D., Baglin T., Dokal I., de Vos J. Oxford handbook of Clinical Haematology, 4th edition. Oxford University Press. 2015. – 820 p. doi 101093/med/97819983307001.0001.

Каждый специалист время от времени сталкивается с профессиональными научно-медицинскими вопросами, на которые он не может быстро найти ответы

## Ваши вопросы — наши ответы!

Экспертная поддержка в области научно-медицинских вопросов

Сервис научно-медицинской информации для специалистов здравоохранения

 myMedInfo



Используя медицинский сервис **myMedInfo**, ООО «Такеда Фармасьютикалс» предоставит специалистам здравоохранения запрашиваемую информацию для повышения качества диагностики и лечения пациентов

## Задать вопрос Вы можете:



Через форму на сайте: <http://mymed.info> или через QR-код



По телефону бесплатной горячей линии: 8 (800) 555 55 79



По электронной почте: [Russia@takeda.com](mailto:Russia@takeda.com)



Задать вопрос через QR-код

## Какие вопросы можно задать через MyMedInfo?

Вопросы, касающиеся препаратов, выпускаемых ООО «Такеда Фармасьютикалс», и следующих тем:

- нежелательная реакция на препарат;
- данные об эффективности и безопасности препарата;
- научные исследования;
- программы раннего доступа к препарату;
- диагностические программы;
- пациентские сервисы;
- доступность препарата в интересующем регионе;
- статус регистрации препарата и другие научно-медицинские вопросы, связанные с деятельностью компании.

Материал предназначен для специалистов здравоохранения. Информация не является рекомендацией компании Такеда, рекламой компании или ее продукции, не должна быть основанием для принятия каких-либо решений или осуществления каких-либо действий. Решение о выборе метода лечения конкретного пациента должно приниматься лечащим врачом.