

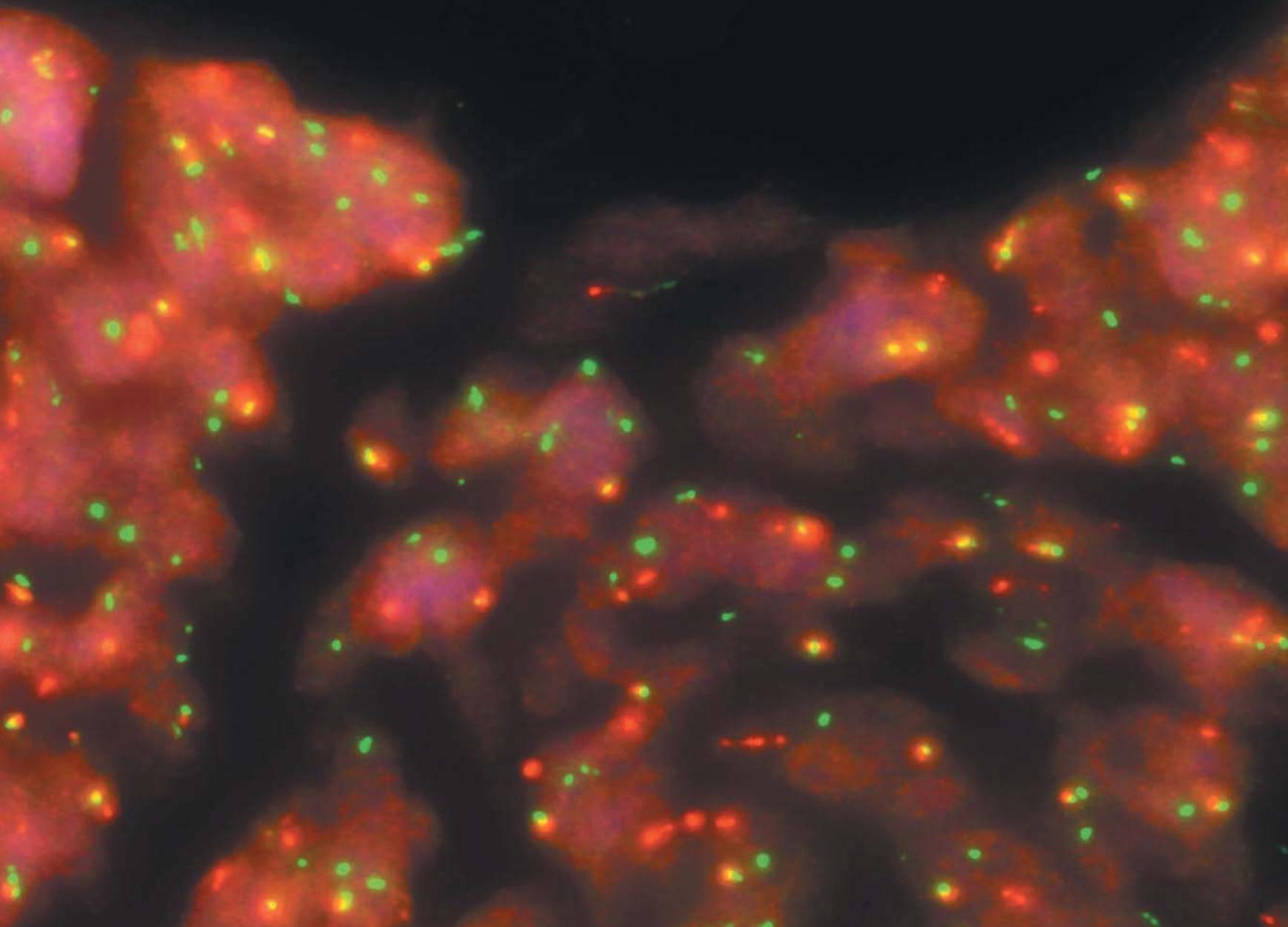
ISSN (Print) 0234-5730
ISSN (Online) 2411-3042

ФГБУ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ГЕМАТОЛОГИИ
МИНЗДРАВА РОССИИ
НАЦИОНАЛЬНОЕ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

65.3. 2020

RUSSIAN JOURNAL
OF HEMATOLOGY AND
TRANSFUSIOLOGY
(GEMATOLOGIYA I TRANSFUSIOLOGIYA)



Для пациентов с миелофиброзом

Увеличить выживаемость* Улучшить качество жизни** Выбор очевиден – ДЖАКАВИ®



* По данным исследований COMFORT 1 и II у пациентов, получавших Джакави®, отмечено снижение риска смерти на 30 % по сравнению с пациентами, получавшими наилучшую доступную терапию (медиана OS 5,3 года по сравнению с 3,8 года соответственно; отношение риска (HR) 0,70 (95 % ДИ: 0,54–0,91); p = 0,0065)

** По результатам исследования T.Palandi, через 3 и 6 месяцев после начала лечения Джакави® ответ со стороны симптоматики был отмечен у 315 из 402 (78,4 %) и 294 из 344 (85,5 %) пациентов*

Джакави® одобрен для лечения пациентов с миелофиброзом, включая первичный миелофиброз и вторичный миелофиброз, развившийся вследствие истинной полицитемии и эссенциальной тромбоцитемии. Лечение пациентов с истинной полицитемией, резистентных к терапии препаратами гидроксимочевины или при их непереносимости.³

ПОЖАЛУЙСТА, ОЗНАКОМЬТЕСЬ С КРАТКИМ ОПИСАНИЕМ ПРЕПАРАТА.

Литературные источники: 1. Verstovsek S et al. Long-term survival in patients treated with ruxolitinib for myeloproliferative: COMFORT-I and -II pooled analyses. Journal of Hematology & Oncology (2017) 10:166.
2. F. Palandi et al. Baseline factors associated with response to ruxolitinib: an independent study on 408 patients with myelofibrosis. Oncotarget. 2017 Jun 22; 8(45):79073-79086. 3. Инструкция по применению

Только для медицинских и фармацевтических работников. Для распространения в местах проведения медицинских или фармацевтических выставок, семинаров, конференций и иных подобных мероприятий



000 «Новартис Фарма», 125315 Москва, Ленинградский пр-т, д. 72, корп. 3,
Тел.: +7 495 9671270; Факс: +7 495 9671268
www.novartis.ru



КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ДЖАКАВИ® Руксолитиниб

Таблетки 5 мг, 15 мг, 20 мг. РУ: ЛП-002028

Примечание. Перед назначением препарата, пожалуйста, прочтите также инструкцию по медицинскому применению.

Показания. Лечение пациентов с миелофиброзом, включая первичный миелофиброз и вторичный миелофиброз, развившийся вследствие истинной полицитемии и эссенциальной тромбоцитемии. Лечение пациентов с истинной полицитемией, резистентных к терапии препаратами гидроксимочевины или при их непереносимости.

Способ применения и дозы. До начала лечения препаратом Джакави® должен быть проведен подсчет форменных элементов крови. Абсолютное число форменных элементов крови необходимо контролировать каждые 2-4 недели во время подбора дозы руксолитиниба и далее по клиническим показаниям. Препарат Джакави® применяется внутрь, дважды в сутки, в одно и то же время, независимо от приема пищи. Рекомендуемая начальная доза препарата Джакави® (для пациентов с первичным миелофиброзом) составляет 15 мг 2 раза в день для пациентов с количеством тромбоцитов 100-200 × 10⁹/л; и 20 мг 2 раза в день для пациентов с количеством тромбоцитов >200 × 10⁹/л. Рекомендуемая начальная доза для пациентов с истинной полицитемией 10 мг 2 раза в день. Максимальная рекомендуемая начальная доза у пациентов с количеством тромбоцитов 50-100 × 10⁹/л составляет 5 мг 2 раза в день внутрь, с последующей титрацией дозы, которую проводят с осторожностью. Лечение должно быть приостановлено при выделении количества тромбоцитов менее 50 × 10⁹/л или при снижении абсолютного числа нейтрофилов менее 0,5 × 10⁹/л (для пациентов с первичным миелофиброзом и пациентов с истинной полицитемией) или при снижении концентрации гемоглобина в крови < 80 г/л (для пациентов с истинной полицитемией). Следует рассмотреть возможность снижения дозы при снижении концентрации гемоглобина в крови < 120 г/л у пациентов с истинной полицитемией, при снижении концентрации гемоглобина в крови < 100 г/л - снижение дозы рекомендуется. Рекомендуется снижение дозы при развитии тромбоцитопении и в случае, если препарат Джакави® применяется одновременно с мощными ингибиторами СYP3A4 или с двойными умеренными ингибиторами изоферментов СYP2C9 и СYP3A4 следует избегать одновременного применения руксолитиниба с флуконазолом в дозе, превышающей 200 мг в день. В случае терапевтической необходимости и, если количество тромбоцитов и нейтрофилов является достаточным, приемлемая доза

Джакави® может быть увеличена максимально на 5 мг 2 раза в день. Начальная доза не должна повышаться в течение первых 4 недель лечения, и затем не чаще чем 1 раз в 2 недели. Максимальная доза препарата Джакави® составляет 25 мг 2 раза в день внутрь. Лечение препаратом продолжают до тех пор, пока сохраняется клинический терапевтический эффект.

У пациентов с печеночной или почечной недостаточностью (клиренс креатинина (КК) менее 30 мл/мин) рекомендуемая начальная доза, основанная на числе тромбоцитов, должна быть снижена приблизительно на 50%. Пациенты с печеночной или тяжелой почечной недостаточностью, получающие Джакави®, должны тщательно наблюдаться, и при необходимости доза препарата должна быть снижена во избежание развития неблагоприятных лекарственных реакций. У пациентов в возрасте ≥ 65 лет коррекции дозы препарата не требуется.

Противопоказания. Повышенная чувствительность к руксолитинибу или любому другому компоненту препарата. Беременность и период кормления грудью. Возраст младше 18 лет.

Предосторожности.

Снижение числа форменных элементов крови: Лечение препаратом Джакави® может приводить к развитию гематологических неблагоприятных реакций, включающих тромбоцитопению, анемию и нейтропению. Рекомендуется контролировать число форменных элементов крови. Необходимо снижение дозы или временное прекращение приема препарата Джакави® при развитии у пациентов тромбоцитопении, анемии или нейтропении. **Инфекции:** У пациентов, получающих терапию препаратом Джакави®, зарегистрированы серьезные случаи бактериальных, микобактериальных, грибковых, вирусных и других оппортунистических инфекций. Перед применением препарата Джакави® следует оценить риск развития серьезных инфекций. Следует тщательно наблюдать пациентов, получающих препарат Джакави®, для выявления симптомов инфекции и в случае необходимости незамедлительно назначать соответствующее лечение. Следует помнить о возможности развития активной или латентной формы туберкулеза. Перед началом терапии препаратом следует обследовать пациента для выявления активной или латентной формы туберкулеза в соответствии с местными клиническими рекомендациями. Сообщалось о случаях развития прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии (ПМЛ) у пациентов, получающих препарат Джакави®. Врачи должны настроенно относиться к нейтрофильным лимфоцитам, позволяющим предположить ПМЛ. При подозрении на развитие ПМЛ следует прекратить применение препарата Джакави® до исключения данного диагноза. У пациентов с хроническим вирусным гепатитом В, получающих препарат Джакави®, отмечалось увеличение титра ДНК вируса гепатита. Лечение и контроль состояния пациентов с хроническим вирусным гепатитом В следует проводить в соответствии с общепринятыми стандартами клинической практики. **Злокачественные новообразования кожи:** За исключением меланомы. При применении препарата Джакави® сообщалось о случаях развития злокачественных новообразований кожи, за исключением меланомы. Рекомендуется проводить периодическое обследование кожных покровов. **Изменение липидного профиля:** Отмечено увеличение концентрации липидов, включая увеличение концентрации общего холестерина, липопротеидов высокой и низкой плотности и триглицеридов, ассоциированных с лечением препаратом Джакави®. Рекомендуется контроль липидного профиля и коррекция дислипидемии в соответствии с местными клиническими рекомендациями. **Печеночная и легочная недостаточность:** Вследствие повышения показателя значимой площади под кривой «концентрация-время» (AUC) препарата Джакави® у пациентов с печеночной и тяжелой почечной недостаточностью, доза препарата Джакави® у данной группы пациентов должна быть снижена.

Применение при беременности и в период грудного вскармливания: Препарат Джакави® противопоказан к применению в период беременности и грудного вскармливания. Пациентам фертильного возраста во время терапии препаратом Джакави® рекомендуется использовать методы контрацепции.

Взаимодействие. Следует соблюдать осторожность при применении препарата Джакави® одновременно с мощными ингибиторами СYP3A4. В случае, если препарат Джакави® применяется одновременно с мощными ингибиторами СYP3A4 или с двойными умеренными ингибиторами изоферментов СYP2C9 и СYP3A4. Следует избегать одновременного применения руксолитиниба с флуконазолом в дозе, превышающей 200 мг в день.

Побочное действие. Очень часто (≥10%): инфекции мочевыводящих путей, анемия, тромбоцитопения, нейтропения, гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия, головокружение, вертего, головная боль, повышение активности АЛТ, повышение активности АСТ, падение гемоглобина, увеличение массы тела, мышечная слабость, усталость. Часто (≥1 до <10%): пневмония, нарушение равновесия, инфекция, вызванная Herpes zoster, метеоризм, запор, повышение АД, истощение, отек, артрит. Нечасто: туберкулез, больше Меншера.

Журнал представлен
в международной базе данных Scopus
(Gematologiya i Transfuziologiya) и в российской базе
РИНЦ (Российский индекс научного цитирования)

Импакт-фактор (РИНЦ) — 0,898

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК)
Министерства образования и науки РФ журнал
«Гематология и трансфузиология» включен в перечень
ведущих научных рецензируемых журналов, в которых
должны быть опубликованы основные научные
результаты диссертаций на соискание ученой
степени кандидата наук
и ученой степени доктора наук

УЧРЕДИТЕЛИ:

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр гематологии»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4

Некоммерческое партнерство содействия развитию
гематологии и трансплантации костного мозга
«Национальное гематологическое общество»

Периодичность издания: 4 номера в год
Префикс DOI: 10.35754

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр гематологии» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Телефоны: 89268163887, 89166812291
e-mail: o.levchenko@hjournal.ru

Научный редактор Галстян Г. М.
Корректоры Пигулевская И. С., Зелексон Л. А.
Верстка Чорненко С. И.

Дизайн Чулкова И. Г.

Формат 230x297 мм
Тираж 1500 экз.
Выход в свет: 16.09.2020

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре РФ.
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-72666
от 16 апреля 2018 года

Издательство: ООО «НЭИКОН ИСП»,
115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5, офис 2.4
тел./факс: +7(499)754-99-94
<https://neicon.ru/>

Объединенный каталог
«Пресса России»: индекс 41284

Подписка через интернет: www.pressa-rl.ru
Подписка на электронную версию журнала: elibrary.ru
Журнал открыт для ознакомления на сайте
<https://www.hjournal.ru/>

ISSN 0234-5730 (Print)
ISSN 2411-3042 (Online)

Гематология и трансфузиология.
Russian Journal of Hematology and Transfusiology
(Gematologiya i Transfuziologiya)
2020. Т. 65. №3. 235–362

© Федеральное государственное бюджетное учре-
ждение «Национальный медицинский исследовате-
льский центр гематологии» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Контент доступен под лицензией Creative Commons
Attribution 4.0 License.

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1956 ГОДУ

Цели и задачи журнала

Обобщение научных и практических достижений в области гематологии и трансфузиологии, повышение квалификации врачей различных специальностей.

Международный журнал «Гематология и трансфузиология» публикует оригинальные и фундаментальные исследования, лекции, обзоры и клинические наблюдения, касающиеся различных разделов гематологии, гемостазиологии и трансфузиологии: физиологии и патофизиологии кроветворения, миелопоэза, иммуногематологии, состояний и заболеваний, обусловленных нарушениями функции и количества тромбоцитов, врожденных и приобретенных нарушений коагуляции и фибринолиза, тромбозов, тромбофилий, вопросов терапии антикоагулянтами и дезагрегантами, вопросов онкогематологии, трансплантации гемопозитических стволовых клеток, генной терапии, экспериментальной биологии и экспериментальной терапии, эпидемиологических исследований, интенсивной терапии критических состояний, возникающих при заболеваниях системы крови, вопросов производственной трансфузиологии, а именно получения и тестирования компонентов крови, их клинического применения при различных заболеваниях.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР ЖУРНАЛА

Савченко Валерий Григорьевич

главный внештатный специалист-гематолог МЗ РФ, академик РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Галстян Геннадий Мартинович

д.м.н., заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Троицкая Вера Витальевна

к.м.н., заместитель генерального директора по лечебной работе, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ЗАВЕДУЮЩАЯ РЕДАКЦИЕЙ

Левченко Ольга Константиновна

к.м.н., старший научный сотрудник отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Буланов Андрей Юльевич, д.м.н., главный внештатный специалист-трансфузиолог Департамента здравоохранения г. Москвы, руководитель консультативной трансфузиологической бригады ГБУЗ «ГКБ № 52 ДЗ г. Москва» (Москва, Россия)

Гапонова Татьяна Владимировна, к.м.н., главный внештатный специалист-трансфузиолог МЗ РФ, заместитель генерального директора по трансфузиологии — заведующая отделом трансфузиологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гудков Андрей Владимирович, д.б.н., профессор, директор Института рака Розвелла Парка (Баффало, США)

Звонков Евгений Евгеньевич, д.м.н., заведующий отделением интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Зозуля Надежда Ивановна, д.м.н., заведующая отделом коагулопатий ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Клясова Галина Александровна, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Ковригина Алла Михайловна, д.б.н., заведующая патологоанатомическим отделением ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Крыжановский Олег Игоревич, к.м.н., руководитель программы лечения злокачественных гематологических заболеваний онкологического центра Alta Bates Summit Medical Center (Беркли, Калифорния, США)

Купряшов Алексей Анатольевич, д.м.н., заведующий отделением переливания крови ФГБУ «НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ (Москва, Россия)

Масчан Алексей Александрович, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заместитель генерального директора, директор Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Менделеева Лариса Павловна, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по научной работе и инновациям, заведующая отделением высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Никитин Евгений Александрович, д.м.н., заведующий дневным стационаром гематологии, онкологии и химиотерапии ГБУЗ г. Москвы «КБ им. С.П. Боткина» ДЗ г. Москвы (Москва, Россия)

Паровичникова Елена Николаевна, д.м.н., заведующая отделом химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Семочкин Сергей Вячеславович, д.м.н., профессор кафедры онкологии и гематологии ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ (Москва, Россия)

Судариков Андрей Борисович, д.б.н., заведующий лабораторией молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Трахтман Павел Евгеньевич, д.м.н., заведующий отделением заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Тумян Гаяне Сепуговна, д.м.н., профессор кафедры онкологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, ведущий научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ (Москва, Россия)

Чернов Вениамин Михайлович, д.м.н., член-корреспондент РАЕН, профессор, заведующий научно-консультативным отделом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Алейникова Ольга Витальевна, член-корр. НАН Беларуси, д.м.н., профессор, директор Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск, Республика Беларусь)

Аль-Ради Любовь Саттаровна, к.м.н., зам. заведующего консультативного гематологического отделения с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Байков Вадим Валентинович, д.м.н., заведующий лабораторией патоморфологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Бигильдеев Алексей Евгеньевич, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Бидерман Белла Вениаминовна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Бондаренко Сергей Николаевич, к.м.н., руководитель отдела онкологии, гематологии и трансплантологии для подростков и взрослых Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Васильев Сергей Александрович, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник консультативного гематологического отделения с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гаврилина Ольга Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гармаева Татьяна Цыреновна, д.м.н., заместитель генерального директора по организационно-методической работе и взаимодействию с регионами Российской Федерации, заведующий научно-организационным отделом по гематологии, трансфузиологии, донорству ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Головкина Лариса Леонидовна, д.м.н., заведующая лабораторией трансфузиологической иммуногематологии, ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Грицаев Сергей Васильевич, д.м.н., руководитель Республиканского центра трансплантации костного мозга ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА» (Санкт-Петербург, Россия)

Двирник Валентина Николаевна, к.м.н., заведующая централизованной клинко-диагностической лабораторией ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Джулакян Унан Левонович, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Дроков Михаил Юрьевич, к.м.н., руководитель сектора по изучению иммунных воздействий и осложнений после трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Дубинкин Игорь Владимирович, к.б.н., ведущий специалист группы трансфузионной биотехнологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Ефимов Григорий Александрович, д.б.н., заведующий лабораторией трансплантационной иммунологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Исхаков Эльдор Джасурович, к.м.н., научный руководитель отделения гематологии НИИ гематологии и переливания крови (Ташкент, Узбекистан)

Кохно Алина Владимировна, к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Кузьмина Лариса Анатольевна, к.м.н., заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Кулагин Александр Дмитриевич, д.м.н., профессор, заместитель главного врача по гематологии, онкогематологии и ревматологии Клиники ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Куликов Сергей Михайлович, к.т.н., заведующий информационно-аналитическим отделом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Луговская Светлана Алексеевна, д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ (Москва, Россия)

Лукина Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением орфанных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Магомедова Аминат Умарасхабовна, д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Маккарти Филип, профессор онкологии и внутренней медицины Института рака (Розвелл Парк Баффало, США)

Масчан Михаил Александрович, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора, директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ (Москва, Россия)

Михайлова Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Моисеева Татьяна Николаевна, к.м.н., заведующая консультативным гематологическим отделением с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Нидервайзер Дитгер, профессор медицины, руководитель отдела гематологии и онкологии университетского госпиталя (Лейпциг, Германия)

Обухова Татьяна Никифоровна, к.м.н., заведующая лабораторией кариологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Салимов Эмин Львович, д.м.н., заведующий отделом заготовки крови и ее компонентов, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) МЗ РФ (Москва, Россия)

Сметанина Наталия Сергеевна, д.м.н., профессор, заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Туполева Татьяна Алексеевна, д.м.н., заведующая отделом вирусологической диагностики ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Туркина Анна Григорьевна, д.м.н., профессор, заведующая научно-консультативным отделением химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Фидарова Залина Таймуразовна, к.м.н., заведующая отделением химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с дневным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Фоа Робин, д.м.н., профессор гематологии, руководитель отдела гематологии Римского университета «La Sapienza» (Рим, Италия)

Хаманганова Екатерина Георгиевна, д.б.н., заведующая лабораторией тканевого типирования, ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Хелльман Ричард, преподаватель клинической медицины в больнице Лоренс Мемориал (Нью-Йорк, США)

Хольцер Дитер, профессор медицины и гематологии университета Франкфурта, вице-президент Европейской школы гематологии и европейской и немецкой сети специалистов по лейкозам, координатор европейской рабочей группы острого лимфобластного лейкоза у взрослых (Франкфурт-на-Майне, Германия)

Цаур Григорий Анатольевич, д.м.н., заведующий лабораторией молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии ОКБ № 1 (Екатеринбург, Россия)

Шипунова Ирина Николаевна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

The journal is presented in the international database of Scopus (Gematologiya i Transfuziologiya) and Russian database RSCI (Russian science citation index)

IF (RISC) – 0,898

Under the decision of the Higher Attestation Commission (HAC) of the Ministry of Education and Science, Russian Journal of Hematology and Transfusiology is included in the list of leading peer-reviewed scientific journals, where the main scientific results of dissertations for academic degree of Candidate of Sciences and for academic degree of Doctor of Sciences should be published.

FOUNDERS

National Research Center for Hematology of the Ministry of Health of the Russian Federation
125167, Moscow, Novyy Zykovskiy proezd, 4

Non-profit partnership of assistance to development of hematology and bone marrow transplantation «National Society of Hematology»

Frequency: quarterly
DOI Prefix: 10.35754

ADDRESS OF EDITORIAL

125167, Moscow, Novyy Zykovskiy proezd, 4
National Research Center for Hematology, Moscow

Phone: +7(495) 921-22-04
E-mail: ht@hjournal.ru

Science editor Galstyan G. M.
Correctors Pigulevskaya I. S., Zelekson L. A.
Layout of Chornenkiy S. I.

Design by Chulkova I. G.

Format 230x297 mm
Printed copies 1500
Publication: 16.09.2020

The journal is registered in Roskomnadzor of the Russian Federation Registrations certificate
PI No. FS77-72666 dated April 16, 2018

NEICON ISP Ltd, Letnikovskaya str., 4,
bldng 5, of. 2.4, Moscow, 115114, Russia
<https://neicon.ru/>

United Catalog «Press of Russia»: Index 41284
Subscription via the Internet: www.pressa-rf.ru
Subscription to the electronic version of the journal: elibrary.ru

ISSN 0234-5730 (Print)
ISSN 2411-3042 (Online)

Гематология и трансфузиология.
Russian Journal of Hematology and Transfusiology
(Gematologiya i Transfuziologiya)
2020. Vol. 65. No.3, 235–362

© National Research Center for Hematology, Moscow

Content is distributed
under Creative Commons Attribution 4.0 License

THE JOURNAL IS BASED IN JANUARY 1956

Aims and Scope

Hematology and Transfusiology is a peer-reviewed scholarly journal aimed at presenting scientifically and practically significant research findings in the field of hematology and transfusiology, as well as at advancing professional competencies of physicians of various specialities.

Hematology and Transfusiology is an international peer-reviewed scholarly journal aimed publishes original research papers, reviews, clinical cases and lecture notes pertaining to a broad range of problems in the fields of hematology, hemostasiology and transfusiology. Among them are the physiology and pathophysiology of hematopoiesis, myelopoiesis, immunoematology; conditions and diseases caused by impaired platelet function and number, congenital and acquired disorders of coagulation and fibrinolysis, thrombosis, thrombophilia; therapy with anticoagulants and disaggregants; problems of oncohematology, hematopoietic stem cell transplantation, gene therapy, experimental biology and experimental therapy; epidemiological studies of blood system diseases, intensive therapy of critical conditions that arise due to various blood system diseases; issues of industrial transfusion, i.e. production of plasma and blood components for treating various diseases and conditions.

EDITOR-IN-CHIEF

Valery G. Savchenko

Dr. Sci. (Med.), Prof., Chief Hematology Specialist of the Ministry of Health of the Russian Federation, RAS Academician, Head of the National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

DEPUTY CHIEF EDITOR

Gennady M. Galstyan

Dr. Sci. (Med.), Head of the Intensive Care Department of the National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

EXECUTIVE SECRETARY

Vera V. Troitskaya

Cand. Sci. (Med.), Deputy Director for Medical Work, Head of the Intensive High-Dose Chemotherapy Department for patients with Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

HEAD OF THE EDITORIAL OFFICE

Olga K. Levchenko

Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Intensive Care Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

EDITORIAL BOARD

Andrei Yu. Bulanov, Dr. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the Moscow Healthcare Department, Head of the Transfusiology Advisory Team of the City Clinical Hospital No. 52, (Moscow, Russia).

Tatyana V. Gaponova, Cand. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the of the Ministry of Health of the Russian Federation, Deputy Director for Transfusiology, Head of the Department of Transfusiology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Andrei V. Gudkov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Director of the Roswell Park Comprehensive Cancer Center (Buffalo, USA).

Evgeny E. Zvonkov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of High-Dose Lymphoma Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Nadezhda I. Zozulya, Dr. Sci. (Med.), Head of the Coagulopathy Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Galina A. Klyasova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Laboratory of Clinical Bacteriology, Mycology and Antibiotic Therapy National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

Alla M. Kovrigina, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Pathology Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

Oleg I. Kryzhanovskiy, Cand. Sci. (Med.), Director of Malignant Hematology Program Comprehensive Cancer Center "Alta Bates" Summit Medical Center (Berkeley, CA, USA)

Alexey A. Kupryashov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Blood Transfusion Department, A.N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery (Moscow, Russia)

Alexey A. Maschan, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the of the Russian Academy of Science, Deputy General Director Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Director of the Institute of Hematology, Immunology and Cell's Technology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Larisa P. Mendeleeva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Director for Research and Innovations, Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of paraproteinemic haematological malignancies, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Evgeny A. Nikitin, Dr. Sci. (Med.), Head of the day care Department of Hematology, Chemotherapy and Oncology, Botkin Moscow City Hospital (Moscow, Russia).

Elena N. Parovchnikova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Sergey V. Semochkin, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Chair of Oncology and Hematology, Pirogov Russian National Research Medical University, (Moscow, Russia).

Andrey B. Sudarikov, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Pavel E. Trakhtman, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Transfusiology, Procurement

and Processing of Hematopoietic Stem Cells, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Gayane S. Tumyan, Dr. Sci. (Med.), Prof., of the Chair of Oncology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Leading Researcher, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of oncology" (Moscow, Russia).

Veniamin M. Chernov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of the Scientific Consulting Department, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

EDITORIAL COUNCIL

Olga V. Aleinikova, Dr. Sci. (Med.), Prof., RAS Corresponding Member, National Academy of Sciences of Belarus, Head of the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology and Hematology (Minsk, Belarus).

Lyubov S. Al-Radi, Cand. Sci. (Med.), Deputy Head of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Vadim V. Baikov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Pathology Department, Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Associate Professor, Pathology Department, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Alexey E. Bigildeev, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Bella V. Biderman, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, Federal Medical Research Center of Hematology (Moscow, Russia).

Sergey N. Bondarenko, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Oncology, Hematology and Transplantation for Adolescents and Adults, Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Sergey A. Vasiliev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Leading Researcher of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy for High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Olga A. Gavrilina, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Tatyana Ts. Garmaeva, Deputy Director for Organizational and Methodological Work and Cooperation with Regions of the Russian Federation, Head of the Scientific and Organizational Department for Hematology, Transfusiology, Donation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Larisa L. Golovkina, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory for Transfusion Immune Hematology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Sergey V. Gritsaev, Dr. Sci. (Med.), Head of the Republican Center for Bone Marrow Transplantation, Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology under the Federal Medico-Biological Agency (St. Petersburg, Russia).

Valentina N. Dvirnyk, Cand. Sci. (Med.), Head of the Centralized Clinical and Diagnostic Laboratory, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Hunan L. Julhakyany, Cand. Sci. (Med.), Scientific Secretary, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Mikhail Yu. Drovkov, Cand. Sci. (Med.), Head of the Sector for the Study of Immune Effects and Complications After Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Igor V. Dubinkin, Cand. Sci. (Biol.), Leading specialist of the Transfusion Biotechnology Group, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Grigory A. Efimov, Dr. Sci. (Biol.), Head of Transplant Immunology Laboratory, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Eldor D. Iskhakov, Cand. Sci. (Med.), Scientific Director, Department of Hematology, Scientific Research Institute for Hematology and Blood Transfusion (Tashkent, Uzbekistan).

Alina V. Kokhno, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Alexander D. Kulagin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Chief Doctor for Hematology, Oncohematology and Rheumatology, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Sergey M. Kulikov, Cand. Sci. (Engineering), Head of the Information and Analytical Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Svetlana A. Lugovskaya, Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Moscow, Russia).

Elena A. Lukina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Orphan Diseases Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Aminat U. Magomedova, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hematological malignancies, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Philip McCarthy, MD, Prof. of Oncology and Internal Medicine, Roswell Park Comprehensive Cancer Center (Buffalo, USA).

Mikhail A. Maschan, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy General Director, Director of the Higher School of Molecular and Experimental Medicine, Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Elena A. Mikhailova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Leading Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Tatyana N. Moiseeva, Cand. Sci. (Med.), Head of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Dietger Niederwieser, MD, Professor of Medicine, Head of the Department of Hematology and Oncology, Leipzig University Clinic (Leipzig, Germany).

Tatyana N. Obukhova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Karyology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Emir L. Salimov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Blood and its Component Banking; Prof., Department of Anesthesiology and Resuscitation, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Moscow, Russia).

Nataliya S. Smetanina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Director of the Institute of Hematology, Immunology and Cell's Technology Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Tatyana A. Tupoleva, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Virological Diagnostics, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Anna G. Turkina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Scientific Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology, (Moscow, Russia).

Zalina T. Fidarova, Cand. Sci. (Med.), Head of day hospital for Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Robin Foa, MD, Professor of Hematology, Head of the Department of Hematology, University of Rome "La Sapienza" (Rome, Italy)

Ekaterina G. Khamaganova, Dr. Sci. (Biology), Head of the Laboratory of Tissue Typing, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Richard M. Hellman, MD, Prof. of Hematology and Medical Oncology, Lawrence Memorial Hospital (New London, USA).

Dieter Hoelzer, MD, PhD, Prof. of Internal Medicine, University of Frankfurt; Vice-President of the European School of Hematology and the European and German Network of Specialists on Leukemia; Coordinator of the European Working Group for Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults (Frankfurt, Germany)

Grigoriy A. Tsaurov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathomorphology, Sverdlovsk Region Clinical Hospital No. 1 (Ekaterinburg, Russia)

Irina N. Shipunova, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

242–250 Симарова И.Б., Костин А.И., Смирнова Ю.В.,
Ладыгина Е.А., Логунов Д.Ю., Должикова И.В.,
Ганчин В.В., Васин Е.А., Байков А.И., Буланов А.Ю.,
Боровкова Н.В., Петриков С.С.
**Формирование когорты доноров антиковидной
плазмы с высоким титром антител, нейтрализующих
вирус SARS-CoV-2**

251–262 Вяткина О.И., Потапнев М.П., Краско О.В.
**Микробиологическая безопасность
компонентов крови и эффективность мер
по ее совершенствованию**

263–280 Абдуллаев А.О., Степанова Е.А., Макарик Т.В.,
Никулина Е.Е., Треглазова С.А., Горячева С.Р.,
Шухов О.А., Быкова А.Н., Трацевская Ж.В.,
Меликян А.Л., Ковригина А.М., Туркина А.Г.,
Судариков А.Б.
**Частота сочетания и кинетика уровня транскрипта
BCR-ABL1 и аллельной нагрузки мутаций
JAK2^{V617F+} и CALR тип-1, -2 у больных хроническим
миелолейкозом**

281–290 Мальчикова А.О., Клясова Г.А.
**Продукция биопленок среди возбудителей
инвазивного кандидоза у больных опухолевыми
заболеваниями системы крови и у больных
без опухолевых заболеваний системы крови**

291–298 Логинова М.А., Малышева Н.А., Минаева Н.В.,
Парамонов И.В.
**Оценка эффективности деятельности регистра
потенциальных доноров гемопоэтических стволовых
клеток**

299–311 Васильева В.А., Кузьмина Л.А., Паровичникова Е.Н.,
Дроков М.Ю., Дмитрова А.А., Старикова О.С.,
Хамаганова Е.Г., Бидерман Б.В., Ахремцова А.А.,
Гапонова Т.В., Менделеева Л.П., Савченко В.Г.
**Выполнение трансплантаций аллогенных
гемопоэтических стволовых клеток от неродственных
доноров из Российского и зарубежного регистров
в одном трансплантационном центре**

312–320 Бидерман Б.В., Ликольд Е.Б., Абдрахимова А.Р.,
Леонов Е.А., Хамаганова Е.Г., Судариков А.Б.
**Репертуар HLA-аллелей у российских больных
хроническим лимфолейкозом с неблагоприятным
прогнозом**

CONTENTS

Original Articles

Simarova I.B., Kostin A.I., Smirnova Ju.V., Ladygina E.A.,
Logunov D.Yu., Dolzhikova I.V., Ganchin V.V., Vasin E.A.,
Baykov A.I., Bulanov A.Yu., Borovkova N.V., Petrikov S.S.
**Formation of a cohort of anticovid plasma donors
with high-titer antibodies neutralizing SARS-CoV-2**

Viatkina O.I., Potapnev M.P., Krasko O.V.
**Microbial safety of blood components and efficacy
of measures for its improvement**

Abdullaev A.O., Stepanova E.A., Makarik T.V., Nikulina E.Y.,
Treglazova S.A., Goryacheva S.R., Shukhov O.A.,
Bykova A.V., Tratsevskaya Z.V., Melikyan A.L., Kovrigina A.M.,
Turkina A.G., Sudarikov A.B.
**Frequency of coexistence and kinetics of the BCR-ABL1
transcript level and allele burden of JAK2^{V617F} and CALR
Type 1, 2 gene mutations in patients with chronic myeloid
leukemia**

Malchikova A.O., Klyasova G.A.
**Biofilm production among *Candida* spp. causing invasive
candidiasis in patients with hematological malignancies
and without hematological malignancies**

Loginova M.A., Malysheva N.A., Minaeva N.V.,
Paramonov I.V.
**Evaluation of the efficiency of the activity of the register
of potential donors of hematopoietic stem cells**

Vasilyeva V.A., Kuzmina L.A., Parovichnikova E.N.,
Drokov M.Yu., Dmitrova A.A., Starikova O.S.,
Khamaganova E.G., Biderman B.V., Akhremtsova A.A.,
Gaponova T.V., Mendeleeva L.P., Savchenko V.G.
**Implementation of allogeneic hematopoietic stem cell
transplantation from unrelated donors from Russian
and foreign registries**

Biderman B.V., Likold E.B., Abdrakhimova A.R., Leonov E.A.,
Khamaganova E.G., Sudarikov A.B.
**HLA allele repertoire in Russian chronic lymphocytic
leukemia patients with an unfavorable prognosis**

Обмен опытом

- 321–334 Тихомиров Д.С., Туполева Т.А., Гуляева А.А., Старкова О.Г.,
Абакаров Р.Р., Куликов С.М., Гапонова Т.В.
**Система мер, обеспечивающая безопасность
трансфузий компонентов крови**

Обзоры литературы

- 335–350 Бальжанова Я.Б., Савченко В.Г.
**Роль интерлейкина-3 и его рецептора в патогенезе
острых лейкозов**

Клинические рекомендации

- 351–359 Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Шерстнев Ф.С.,
Купряшов А.А., Оловникова Н.И., Зозуля Н.И.,
Троицкая В.В., Мазурок В.А., Певцов Д.Э.,
Салимов Э.Л., Трахтман П.Е., Савченко В.Г.
**Клиническое использование криосупернатантной
плазмы**

Некролог

- 360–361 Памяти академика Андрея Ивановича Воробьева
(01.11.1928–15.06.2020)

Exchange of experience

- Tikhomirov D.S., Tupoleva T.A., Gulyaeva A.A., Starkova O.G.,
Abakarov R.R., Kulikov S.M., Gaponova T.V.
**A comprehensive measures ensuring the safety of blood
component transfusions**

Review Articles

- Balzhanova Ya. B., Savchenko V.G.
**The role of interleukin-3 and its receptor in acute leukemia
pathogenesis**

Clinical recommendations

- Galstyan G.M., Gaponova T.V., Sherstnev F.S., Kupryashov A.A., Olovnikova N.I., Zozulya N.I., Troitskaya V.V., Mazurok V.A., Pevtsov D.E., Salimov E.L., Trakhtman P.E., Savchenko V.G.
Clinical guidelines for cryosupernatant transfusions

Obituary

- Andrey Ivanovich Vorobiev
(01.11.1928–15.06.2020)

ФОРМИРОВАНИЕ КОГОРТЫ ДОНОРОВ АНТИКОВИДНОЙ ПЛАЗМЫ С ВЫСОКИМ ТИТРОМ АНТИТЕЛ, НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ ВИРУС SARS-CoV-2

Симарова И. Б.^{1,2*}, Костин А. И.¹, Смирнова Ю. В.¹, Ладыгина Е. А.¹, Логунов Д. Ю.³, Должикова И. В.³, Ганчин В. В.⁴, Васин Е. А.², Байков А. И.⁴, Буланов А. Ю.², Боровкова Н. В.¹, Петриков С. С.¹

¹ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», 129090, Москва, Россия

²ГБУЗ города Москвы «Городская больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы», 123182, Москва, Россия

³ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123098, Москва, Россия

⁴АНО «Центр аналитического развития социального сектора», 127473, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Трансфузии плазмы антиковидной патогенредуцированной (ПАП) рассматривается как один из методов лечения COVID-19.

Цель: проанализировать опыт формирования донорского резерва из реконвалесцентов COVID-19 для заготовки ПАП.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование включено 493 реконвалесцента COVID-19, проходивших обследование в ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского ДЗМ» в качестве потенциальных доноров ПАП. Заготовку ПАП осуществляли методом плазмафереза. К процедуре плазмадачи допускали доноров, у которых в анамнезе была перенесенная инфекция COVID-19, подтвержденная выявлением методом полимеразной цепной реакции РНК SARS-CoV-2 в мазках из глотки, наличие медицинской документации, срок с момента разрешения заболевания не менее 14 суток. В качестве характеристики иммунологической состоятельности ПАП был выбран титр вируснейтрализующих антител (ВНА). Сопоставлены характеристики доноров (пол, возраст, давность с момента начала заболевания и регресса клинической симптоматики, особенности течения COVID-19) с титром ВНА.

Результаты. Эффективный титр ВНА (1:160 и более) выявлен у 21,10% доноров, допустимый (1:80) — у 24,75%. Значимыми предикторами высокого титра ВНА оказались: мужской пол донора, возраст старше 36 лет, наличие верифицированной вирусной пневмонии. Отсутствие значимой температурной реакции (38,5 °С) может рассматриваться как отрицательный маркер для привлечения потенциального донора.

Заключение. Для получения ПАП с высокими титрами ВНА оптимально привлечение в качестве доноров-реконвалесцентов мужчин, переболевших COVID-19 с клинической картиной вирусной пневмонии и значимой температурной реакцией.

Ключевые слова: COVID-19, антиковидная плазма, донорство

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Благодарности: Раковой Анастасии Владимировне, заместителю мэра Москвы в Правительстве Москвы по вопросам социального развития; Урожаевой Юлии Валерьевне, первому заместителю начальника Управления заместителя мэра Москвы в Правительстве Москвы по вопросам социального развития; Пономаревой Дарье Юрьевне, медицинскому регистратору отделения трансфузиологии НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского.

Для цитирования: Симарова И.Б., Костин А.И., Смирнова Ю.В., Ладыгина Е.А., Логунов Д.Ю., Должикова И.В., Ганчин В.В., Васин Е.А., Байков А.И., Буланов А.Ю., Боровкова Н.В., Петриков С.С. Формирование когорты доноров антиковидной плазмы с высоким титром антител, нейтрализующих вирус SARS-CoV-2. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(3): 242–250. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-242-250>

FORMATION OF A COHORT OF ANTICOVID PLASMA DONORS WITH HIGH-TITER ANTIBODIES NEUTRALIZING SARS-CoV-2

Simarova I. B.^{1,2,*}, Kostin A. I.¹, Smirnova Ju. V.¹, Ladygina E. A.¹, Logunov D. Yu.³, Dolzhikova I. V.³, Ganchin V. V.⁴, Vasin E. A.², Baykov A. I.⁴, Bulanov A. Yu.², Borovkova N. V.¹, Petrikov S. S.¹

¹N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Department of Healthcare, 129090, Moscow, Russian Federation

²City Hospital No. 52 of the Moscow Healthcare Department, 123182, Moscow, Russian Federation

³National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russian Federation

⁴Center of Analytical Development of the Social Sector, 123473, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Background. The application of convalescent plasma (CP) is currently seen as a feasible therapeutic approach in the treatment of COVID-19.

Aim. To analyze the experience of recruiting a donor cohort from COVID-19 convalescents for banking of CP as part of a pilot project at the Moscow Healthcare Department.

Materials and methods. A retrospective research included 493 COVID-19 convalescents as potential CP donors, all examined at the Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine. CP was banked using the plasmapheresis method. Only those donors with a documented medical history of COVID-19, which was confirmed by polymerase chain reaction of SARS-CoV-2 RNA in pharyngeal swabs, and no sooner than 14 days after complete recovery were eligible for donation. Viral neutralizing activity (VNA) was chosen as the key characteristic of the immunological viability of CP. All the donors having VNA titers were characterized in terms of gender, age, time interval since the disease onset, regression of clinical symptoms and clinical features of the COVID 19 course.

Results. Effective (1:160 or more) and acceptable (1:80) VNA titers were found in 21.1 % and 24.75 % of donors, respectively. Significant predictors for a donor having a high VNA titer included: male sex, age over 36 years and verified viral pneumonia. The absence of a significant body temperature response (38.5 °C) can be considered as a negative marker of a potential donor.

Keywords: COVID-19, anticovid plasma, blood donation

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

Acknowledgments: the authors are grateful to Anastasia V. Rakova, Deputy Mayor of Moscow for Social Development in the Moscow Government; Yulia V. Urozhaeva, First Deputy Head of the Office of the Deputy Mayor of Moscow for Social Development in the Moscow Government; Daria Yu. Ponomareva, Medical Registrar of the Transfusiology Department of the N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine for their assistance in conducting this research.

For citation: Simarova I.B., Kostin A.I., Smirnova Ju.V., Ladygina E.A., Logunov D.Yu., Dolzhikova I.V., Ganchin V.V., Vasin E.A., Baykov A.I., Bulanov A.Yu., Borovkova N.V., Petrikov S.S. Formation of a cohort of anticovid plasma donors with high-titer antibodies neutralizing Sars-CoV-2. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2020; 65(3): 242–250 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-242-250>

Введение

В марте 2020 года Всемирная организация здравоохранения объявила пандемию новой инфекции, вызванной вирусом из семейства *Coronaviridae*: SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus –2). Новая коронавирусная инфекция получила название COVID-19. Наиболее тяжелым осложнением COVID-19 явилась пневмония, характеризующаяся атипичным течением и частым развитием острой дыхательной недостаточности. К настоящему моменту в мире инфицировано более 13 млн человек, из которых свыше 570 тысяч умерли [1]. COVID-19 — это не первая коронавирусная инфекция, эпидемия которой возникает в мире. Ранее, в 2003 году, состоялась эпидемия атипичной пневмонии, вызванная вирусом SARS-CoV, а в 2012 г. — MERS [2]. В период прошедших эпидемий при отсутствии специфических методов лечения одним из эффективных подходов явились трансфузии плазмы крови выздоровевших пациентов (плазмы реконвалесценто-в). Лечение с помощью трансфузий плазмы, полученной от реконвалесценто-в, представляет собой пассивную иммунизацию за счет введения антител к инфекционному агенту. Такой метод лечения имеет богатую историю, начиная с пандемии «испанки» более 100 лет назад [2–7]. Эффективность переливания плазмы реконвалесценто-в была показана также при эпидемии гриппа H1N1 в 2009 году [4].

На сегодняшний день нет средств этиотропной терапии COVID-19 с доказанной эффективностью. Высокая летальность, ассоциированная с COVID-19, потребовала неотложных решений, и по аналогии с предыдущими инфекциями, вызванными коронавирусом, группы экспертов из разных стран пришли к выводу о целесообразности применения плазмы реконвалесценто-в (convalescent plasma, или реконвалесцентная плазма, или, согласно «Временным рекомендациям МЗ РФ» (версия 6), применяется плазма антиковидная патогенредуцированная — ПАП) с лечебной целью у больных с COVID-19 [8, 9]. В ряде стран запущены программы по заготовке и клиническому использованию ПАП [8, 9]. Основным параметром, обеспечивающим терапевтическую эффективность плазмы реконвалесценто-в, является наличие и титр вируснейтрализующих антител (ВНА). В то же время в ряде работ показано, что выраженность иммунного ответа на COVID-19 различна, и антитела, нейтрализующие вирус, определяются не у всех переболевших [10]. В этой связи при получении плазмы с высокой терапевтической эффективностью актуальным является тщательный отбор доноров-реконвалесценто-в.

Цель настоящей работы — анализ опыта формирования донорского резерва из реконвалесценто-в COVID-19 для заготовки ПАП.

Материалы и методы

В рамках пилотного проекта Департамента здравоохранения города Москвы в ретроспективное исследование включено 493 реконвалесцента COVID-19, прошедших обследование в ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» в качестве потенциальных доноров ПАП. Средний возраст доноров составил 36 лет (от 25 до 55 лет). Среди доноров были 271 (55 %) мужчина и 22 (45 %) женщины.

Заготовку ПАП осуществляли методом плазмафезы. Критериями отбора доноров были перенесенная инфекция COVID-19, подтвержденная выявлением методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) РНК SARS-CoV-2 в мазках из глотки, наличие медицинской документации (с указанием на два отрицательных результата на ПЦР РНК SARS-CoV-2), срок с момента выписки из стационара не менее 14 суток. В качестве характеристики ПАП был выбран титр ВНА. Анализировали связь между характеристиками доноров (пол, возраст, давность с момента начала заболевания и регресса клинической симптоматики, особенности течения COVID-19) и титром ВНА.

Одной из наиболее важных характеристик ПАП является наличие ВНА к COVID-19. В связи с отсутствием при разработке программы заготовки ПАП зарегистрированных тест-систем для скрининга антител к SARS-CoV-2 в качестве критерия иммунологической состоятельности ПАП был выбран титр ВНА. Выполнение тестов осуществлялось в ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ. Данный вирусологический метод основан на определении наличия или отсутствия цитопатического действия в культуре клеток в зависимости от титра ВНА анализируемой плазмы. Механизм нейтрализации основан на высокоспецифичном взаимодействии антител с поверхностным гликопротеином S вируса, который отвечает за интернализацию вируса: поверхностный гликопротеин S областью рецептор-связывающего домена взаимодействует с рецептором ангиотензин-превращающего фермента-2 (АПФ-2) на поверхности клеток, что запускает каскад реакций, приводящих к проникновению вирусных частиц в клетку. Реакцию нейтрализации ставили в варианте постоянной дозы вируса — разведения плазмы. Готовили разведения плазмы в культуральной среде ДМЕМ с 2 % инактивированной фетальной бычьей сывороткой, далее смешивали со 100 TCID₅₀ (tissue culture infectious dose 50) вируса SARS-CoV-2, инкубировали 1 час при 37 °С, после чего добавляли к клеткам Vero E6 (посевная плотность 2×10^4 /клеток на лунку), затем клетки культивировали при температуре 37 °С и концентрации CO₂ 5 % в течение 96 часов и производили учет развития цитопатического действия вируса на культуру клеток. За титр ВНА исследуемой плазмы принимали высшее ее разведение, при котором

происходило подавление цитопатического действия в 2 лунках из 3. В соответствии с рекомендациями Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration — FDA) [10] титр ВНА 1:160 и более отнесли к высоким значениям, титр ВНА 1:80 — к промежуточным значениям. При определении в плазме ВНА в меньших титрах (1:40 и 1:20) их относили к низким значениям. Отсутствие ВНА в плазме соответствовало значениям от 1:20 и менее. ПАП с низкими титрами ВНА или без них для клинического использования не выдавалась.

Взятие крови на исследование титра ВНА осуществляли непосредственно перед проведением донорского плазмафереза. В рамках настоящего анализа оценивали зависимость ВНА от возраста, пола, особенностей течения заболевания (наличие или отсутствие проявлений легочного поражения, выраженность температурной реакции, результаты ПЦР диагностики SARS-CoV-2), времени от появления и регресса клинической симптоматики. Источником получения информации служила медицинская документация (выписной эпикриз) и результаты анкетирования доноров.

Статистическая обработка выполнена в среде Python. Данные описательной статистики представлены в виде среднее \pm стандартное отклонение или медиана (межквартильный интервал). Проводился однофакторный и многофакторный дисперсионный анализ, ранговая регрессия и корреляция по методу Спирмена. Были использованы критерии Манна — Уитни и хи-квадрат.

Результаты

Высокий титр ВНА (1:160 и более) выявлен у 21,1 % доноров, промежуточный (1:80) — у 24,75 %.

Распределение доноров плазмы в зависимости от титра ВНА представлено на рисунке 1. У 78 доноров ВНА в плазме не выявлены, в 189 случаях титр ВНА был низкий (1:20–1:40), у 104 — промежуточный (1:80), у остальных 122 доноров титр ВНА высокий (1:160 и выше). Среди переболевших только у 24,7 % доноров в плазме определялись высокие титры ВНА, то есть только четверть потенциальных доноров ПАП может рассматриваться как эффективные доноры.

Проведен анализ влияния демографических данных и клинического течения COVID-19 на титр ВНА. Полученные при анализе медицинской документации и дополнительного анкетирования данные представлены в таблице 1.

Назвать точную дату начала и окончания заболевания смогли 476 доноров, 18 — затруднились ответить на данный вопрос в анкете. Наличие температуры во время болезни смогли уточнить 394 донора, в 99 анкетах данные графы не были заполнены. Данные о на-

личии либо отсутствию пневмонии предоставили только 447 доноров, у 46 реконвалесцентов, перенесших COVID-19 в амбулаторных условиях, рентгенологическое исследование не проводилось.

Плазмаферез проводился в среднем через 14 дней с момента исчезновения симптоматики, что соответствовало завершению обсервационного периода. Период от начала заболевания до заготовки плазмы составил 35 дней (от 31 до 92 дней). Это связано с тем, что многие доноры с высоким титром ВНА приглашались повторно для проведения плазмафереза. У 15 доноров найти уточненные данные о дате первичного исследования на РНК вируса SARS-CoV-2 не удалось, у 475 доноров имелись данные о положительных мазках на РНК вируса SARS-CoV-2, у 3 — отрицательные. В связи с тем что в 475 (99 %) наблюдениях данной выборки имелся положительный результат теста на РНК вируса SARS-CoV-2, исследование корреляционной зависимости между титром ВНА и отсутствием-наличием у донора данного параметра не проводилось.

Период от начала заболевания и время, прошедшее с момента выздоровления, были одними из основных критериев отбора потенциального донора-реконвалесцента для проведения плазмафереза. При однофакторном анализе взаимосвязи интервала от начала и окончания заболевания с величиной титра ВНА были обнаружены: отсутствие зависимости от периода после выздоровления до плазмафереза (коэффициент корреляции $r = 0,058675$, $p = 0,2$) и слабая, но достоверная зависимость титра ВНА в пробе крови донора перед донацией от продолжительности периода, который прошел с момента появления первых симптомов до плазмафереза ($r = 0,13$, $p = 0,0042$, 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,041597–0,218293).

Для анализа зависимости содержания ВНА у донора от периода, прошедшего с дебюта новой коронавирусной инфекции до донации плазмы, все реконвалесценты были разделены на 5 групп в соответствии с количеством дней, прошедших от дебюта заболевания до плазмафереза: 1-я группа — до 20 дней,

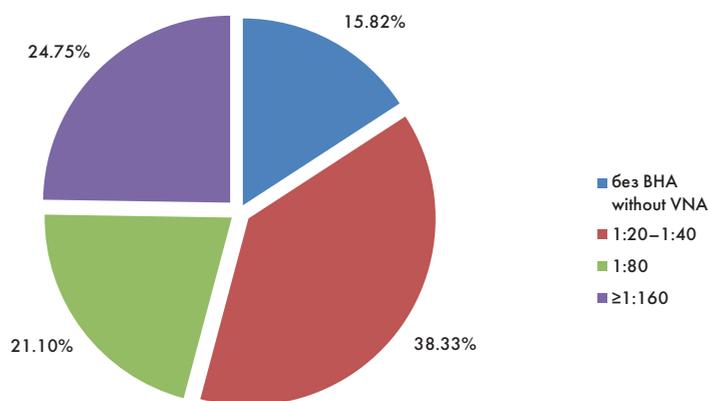


Рисунок 1. Распределение доноров в зависимости от титра ВНА в плазме крови
Figure 1. Distribution of donors depending on the VNA titer in blood plasma

Таблица 1. Характеристика доноров
Table 1. Characteristics of donors

| Показатель Parameter | Значение Value |
|--|------------------------------|
| Интервал от начала заболевания до проведения плазмафереза, дней: нет данных 35 (от 31 до 92) <i>Interval from the disease onset to plasmapheresis, days:</i> no data 35 (from 31 to 92) | 18 475 |
| Максимальная температура тела во время болезни: нет данных ≤ 36,9 °C 37,0–37,9 °C 38,0–38,9 °C ≥ 39,0 °C <i>Maximum body temperature during the course of the disease:</i> no data ≤ 36.9 °C 37.0–37.9 °C 38.0–38.9 °C ≥ 39.0 °C | 99 19 216 137 22 |
| Пневмония: нет данных пневмонии не было пневмония была <i>Pneumonia:</i> no data absence presence | 46 300 147 |
| РНК SARS-CoV-2 в дебюте заболевания: нет данных обнаружено не обнаружено <i>SARS-CoV-2 RNA at the disease onset:</i> no data found not found | 15 475 3 |

2-я группа — 21–30 дней, 3-я группа — 31–40 дней, 4-я группа — 41–50 дней и 5-я группа — 51 и более дней. Выявлена меньшая вероятность заготовки плазмы с высоким титром ВНА, если плазмаферез проводился в интервале 21–40 дней с дебюта заболевания (табл. 2). Наибольшая доля плазмадач с высоким титром ВНА регистрировалась у доноров, которые были рекрутированы по истечении 41 дня с начала заболевания. В группе 1 было недостаточно наблюдений для проведения статистического анализа.

При однофакторном анализе зависимости заготовки плазмы с высоким титром ВНА от возраста была выявлена слабая, но достоверная корреляция: коэффициент корреляции $r = 0,13$, $p = 0,0032$, 95 % ДИ 0,044–0,217 (табл. 3). Выявлено, что в средней возрастной группе (36–55 лет) вероятность заготовки плазмы с высоким ВНА выше, чем у более молодых доноров.

Результаты, полученные при изучении зависимости титра ВНА заготовленной плазмы от пола, наличия в анамнезе вирусной пневмонии и выраженности температурной реакции, представлены в таблице 4.

Вероятность заготовки ПАП с высоким титром ВНА (1:160 и выше) от доноров-мужчин оказалась значительно выше, чем от доноров-женщин. При выявлении в анамнезе у донора верифицированной вирусной пневмонии вероятность заготовки плазмы с высоким титром повышалась в отличие от доноров без доказанной пневмонии в анамнезе. Однако данный критерий не имел достаточной прогностической ценности ввиду невысокой чувствительности. Наличие высокой температурной реакции во время болезни также оказалось специфичным, но недостаточно чувствительным критерием отбора доноров. При многофакторном анализе зависимости заготовки плазмы с высоким титром ВНА от отдельных донорских параметров (табл. 5) наибольшая связь выявлена с мужским полом донора, с возрастом донора и наличием верифицированной вирусной пневмонии, а также с наличием-отсутствием лихорадки. Интервал от начала заболевания до донорства оказался менее значимым, чем в однофакторном анализе.

Обсуждение

Как показало данное исследование, не у всех лиц, перенесших COVID-19, может быть выполнена эффективная донорская ПАП. Чуть меньше половины заготовленной плазмы содержит промежуточные или высокие титры ВНА и, соответственно, может быть использовано для клинического применения в соответствии с рекомендациями FDA [10]. Таким образом, заготовка ПАП от всех реконвалесцентов COVID-19, высказавших желание быть донором иммунной плазмы, экономически нерентабельна из-за большого объема брака по показателю иммунной эффективности. Предварительное тестирование на ВНА с ожиданием результатов в течение нескольких дней тоже чревато ресурсными потерями. В этой связи необходимы простые и доступные критерии, позволяющие максимально отобрать потенциально эффективных доноров на ранних этапах.

Данные литературы по обсуждаемой проблеме ограничены. S. L. Klein и соавт. [11] сообщили о результатах донорства у 126 реконвалесцентов COVID-19. В исследованной группе было больше мужчин (56%), чем женщин, средний возраст реконвалесцентов составил 42 года, плазму собирали в среднем через 43 дня (межквартильный интервал 38–48 дней) после первоначального теста ПЦР на SARS-CoV-2. Авторы не уточнили критерии отбора доноров, но привели информацию о том, что большинство из них перенесли заболевание в среднетяжелой форме, госпитализированных было менее 10%. У всех реконвалесцентов исследование титра ВНА было произведено с использованием кле-

Таблица 2. Зависимость титра ВНА от периода с начала заболевания до плазмафереза
Table 2. Dependence of the VNA titer on the period from the disease onset to plasmapheresis

| Группа Group | Дней от начала заболевания Days from the disease onset | Количество донаций Number of donations | Количество донаций с титром $\geq 1:160$ Number of donations with the titer $\geq 1:160$ |
|-----------------|---|---|---|
| 1* | До 20 | 3 | 1 (33,3%) |
| 2 | От 21 до 30 | 97 | 20 (20,6%) |
| 3 | От 31 до 40 | 275 | 62 (22,5%) |
| 4 | От 41 до 50 | 73 | 25 (34,2%) |
| 5 | Более 51 | 27 | 13 (48,1%) |

Примечание. * — в группе 1 недостаточно данных для оценки статистической значимости; между группами 2 и 4 $p = 0,0235$; между группами 2 и 5 $p = 0,0022$; между группами 3 и 4 $p = 0,0194$; между группами 3 и 5 $p = 0,00161$.

Note. * — no sufficient data in group 1 to assess the statistical significance; statistical significance between groups 2 and 4 $p = 0.0235$; statistical significance between groups 2 and 5 $p = 0.0022$; statistical significance between groups 3 and 4 $p = 0.0194$; statistical significance between groups 3 and 5 $p = 0.00161$.

Таблица 3. Зависимость титра ВНА от возраста донора
Table 3. Dependence of the VNA titer on the donor's age

| Группа Age group | n | С высоким титром With a high VNA titre | С низким титром With a low VNA titre | Доля, % Share, % |
|---------------------|-----|---|---|---------------------|
| ≤ 20 лет | 15 | 3 | 12 | 20,0 |
| 21–35 лет | 212 | 35 | 177 | 16,5 |
| 36–55 лет | 266 | 83 | 183 | 31,2 |

Таблица 4. Зависимость титров ВНА от пола и анамнестических данных донора
Table 4. Dependence of the VNA titer on the donor's gender and medical history

| Параметр Parameter | n | Чувствительность Sensitivity | Специфичность Specificity | p (Манн — Уитни) p (Mann — Whitney) | p (хи квадрат) p (chi square) |
|---|-----|---------------------------------|------------------------------|--|----------------------------------|
| Пол (мужской) Gender (male) | 271 | 0,7213 | 0,5053 | <0,00001 | 0,00002 |
| Пневмония Pneumonia | 447 | 0,5 | 0,7325 | <0,00001 | <0,00001 |
| Температура $\geq 39,0$ °C Body temperature ≥ 39.0 °C | 22 | 0,11 | 0,96 | 0,00118 | 0,00514 |
| Температура 38,0–38,9 °C Temperature 38.0–38.9 °C | 159 | 0,54 | 0,64 | 0,00034 | 0,00103 |

Таблица 5. Зависимость высокого титра ВНА от характеристик доноров
Table 5. Dependence of high VNA titers on donors' characteristics

| Параметр Parameter | Коэффициент Coefficient | Стандартная ошибка Standard error | p |
|---|----------------------------|--------------------------------------|--------|
| Пол донора (мужской) Gender (male) | -0,91 | 0,27 | 0,0009 |
| Верифицированная пневмония Verified pneumonia | 0,73 | 0,26 | 0,0055 |
| Наличие-отсутствие лихорадки Presence/absence of fever | 0,47 | 0,19 | 0,0146 |
| Возраст донора Age | 0,04 | 0,013 | 0,0007 |
| Интервал от начала заболевания Interval from the disease onset | 0,025 | 0,015 | 0,093 |

ток Vero-E6-TMPRSS2. Была обнаружена зависимость содержания ВНА от демографических параметров. Таким образом, авторы выделили два наиболее значимых параметра — это мужской пол и старшая возрастная группа [11].

Результаты, полученные в настоящем исследовании, выявили схожие закономерности. Среди до-

норов, у которых была выполнена эффективная донация ПАП, больше мужчин — 55%, интервал от начала заболевания до донации был несколько короче — 35 дней (31–92 дня). Также показано, что вероятность заготовки плазмы с высоким титром ВНА значимо больше у доноров мужчин в возрасте 36–55 лет по сравнению с более молодыми донора-

ми. В отличие от исследования S. Klein и соавт. [11], настоящее исследование было проведено на группе из 493 доноров; кроме того, выявлен еще один независимый параметр, ассоциированный с высоким титром ВНА, — это наличие вирусной пневмонии в период заболевания.

Литература

1. Worldometer Licensing is a provider of global COVID-19. <https://www.worldometers.info/coronavirus/>.
2. Luke T.C., Kilbane E.M., Jackson J.L., Hoffman S.L. Meta-analysis: convalescent blood products for Spanish influenza pneumonia: a future H5N1 treatment? *Ann Intern Med.* 2006; 145(8): 599–609. DOI: 10.7326/0003-4819-145-8-200610170-00139.
3. Mair-Jenkins J., Saavedra-Campos M., Baillie J.K. et al. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J Infect Dis.* 2015; 211(1): 80–90. DOI: 10.1093/infdis/jiu396.
4. Cheng Y., Wong R., Soo Y. et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005; 24(1): 44–6.
5. Drosten C., Günther S., Preiser W. et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med.* 2003; 348: 1967–76.
6. Chafekar A., Fielding B.C. MERS-CoV: Understanding the latest human coronavirus threat. *Viruses.* 2018; 10. DOI: 10.3390/v10020093.
7. Kuo-Ming Yeh, Tzong-Shi Chiueh, L. K. Siu et al. Experience of using convalescent plasma for severe acute respiratory syndrome among healthcare workers in a Taiwan hospital. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56(5): 919–22. DOI: 10.1093/jac/dki346.
8. Thompson C., Grayson N., Paton R. Neutralising antibodies to SARS coronavirus 2 in Scottish blood donors — a pilot study of the value of serology to determine population exposure. *MedRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.04.13.20060467.
9. Sh Pei, Yuan X., Zhang Z.Z. Convalescent Plasma to Treat COVID-19: Chinese Strategy and Experiences. *MedRxiv.* 2020. DOI: <https://DOI.org/10.1101/2020.04.07.20056440>.
10. U.S. Food and Drug Administration. Recommendations for Investigational COVID-19 Convalescent Plasma. 2020. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/investigational-new-drug-ind-or-device-exemption-ide-process-cber/recommendations-investigational-covid-19-convalescent-plasma>.
11. Klein S., Pekosz A., Park H.S. et al. Sex, age, and hospitalization drive antibody responses in a COVID-19 convalescent plasma donor population. *MedRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.06.26.20139063.

Информация об авторах

Симарова Ирина Борисовна, врач — анестезиолог-реаниматолог ГБУЗ города Москвы «Городская клиническая больница № 52 Департамента здравоохранения города Москвы»; врач-трансфузиолог ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», e-mail: rirab@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9042-3917>

Таким образом, наиболее значимыми критериями отбора доноров-реконвалесценто́в для заготовки ПАП COVID-19 являются: мужской пол донора-реконвалесцента и наличие верифицированной вирусной пневмонии, температурная реакция выше 39 °С во время заболевания.

References

1. Worldometer Licensing is a provider of global COVID-19. <https://www.worldometers.info/coronavirus/>.
2. Luke T.C., Kilbane E.M., Jackson J.L., Hoffman S.L. Meta-analysis: convalescent blood products for Spanish influenza pneumonia: a future H5N1 treatment? *Ann Intern Med.* 2006; 145(8): 599–609. DOI: 10.7326/0003-4819-145-8-200610170-00139.
3. Mair-Jenkins J., Saavedra-Campos M., Baillie J.K. et al. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J Infect Dis.* 2015; 211(1): 80–90. DOI: 10.1093/infdis/jiu396.
4. Cheng Y., Wong R., Soo Y. et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005; 24(1): 44–6.
5. Drosten C., Günther S., Preiser W. et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med.* 2003; 348: 1967–76.
6. Chafekar A., Fielding B.C. MERS-CoV: Understanding the latest human coronavirus threat. *Viruses.* 2018; 10. DOI: 10.3390/v10020093.
7. Kuo-Ming Yeh, Tzong-Shi Chiueh, Siu L. K. et al. Experience of using convalescent plasma for severe acute respiratory syndrome among healthcare workers in a Taiwan hospital, *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56(5): 919–22. DOI: 10.1093/jac/dki346.
8. Thompson C., Grayson N., Paton R. Neutralising antibodies to SARS coronavirus 2 in Scottish blood donors — a pilot study of the value of serology to determine population exposure. *MedRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.04.13.20060467.
9. Sh Pei, Yuan X., Zhang Z.Z. Convalescent Plasma to Treat COVID-19: Chinese Strategy and Experiences. *MedRxiv.* 2020. DOI: <https://DOI.org/10.1101/2020.04.07.20056440>.
10. U.S. Food and Drug Administration. Recommendations for Investigational COVID-19 Convalescent Plasma. 2020. URL: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/investigational-new-drug-ind-or-device-exemption-ide-process-cber/recommendations-investigational-covid-19-convalescent-plasma>.
11. Klein S., Pekosz A., Park H.S. et al. Sex, age, and hospitalization drive antibody responses in a COVID-19 convalescent plasma donor population. *MedRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.06.26.20139063.

Information about the authors

Irina B. Simarova, Anesthesiologist-Resuscitator of the City Hospital No. 52 of the Moscow Healthcare Department; transfusiologist, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine of the Moscow Healthcare Department, e-mail: rirab@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9002-3917>

Костин Александр Игоревич, кандидат медицинских наук, заведующий отделением производственной, клинической трансфузиологии и гравитационной хирургии крови ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»,
e-mail: kostinai@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7542-851X>

Смирнова Юлия Владимировна, трансфузиолог отделения производственной, клинической трансфузиологии и гравитационной хирургии крови ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»
e-mail: ladyginaea@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8075-1837>

Ладыгина Елена Александровна, гематолог-трансфузиолог отделения производственной, клинической трансфузиологии и гравитационной хирургии крови ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»,
e-mail: ladyginaea@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7343-0667>

Логунов Денис Юрьевич, доктор биологических наук, член-корр. РАН, заместитель директора ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: logunov@gamaleya.org
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4035-6581>

Должикова Инна Вадимовна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dolzhikova@gamaleya.org
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2548-6142>

Ганчин Владимир Владимирович, заместитель генерального директора, директор Департамента развития первичного медицинского звена АНО «Центр аналитического развития социального сектора»,
e-mail: GanchinVV@zdrav.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9138-6479>

Васин Евгений Анатольевич, аналитик ГБУЗ города Москвы «Городская клиническая больница № 52 Департамента здравоохранения города Москвы»,
e-mail: spectrum48@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1439-9476>

Байков Александр Игоревич, менеджер проектов автономной некоммерческой организации «Центр аналитического развития социального сектора»,
e-mail: baykovA11@zdrav.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6015-486X>

Alexander I. Kostin, Cand. Sci. (Med.), Head of Transfusion Medicine Department, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine of the Moscow Healthcare Department,
e-mail: kostinai@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7542-851X>

Juliya V. Smirnova, Transfusiologist of the Department of Manufacturing, Clinical Transfusionology and Gravitational Blood Surgery, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine of the Moscow Healthcare Department,
e-mail: ladyginaea@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8075-1837>

Elena A. Ladygina, Hematologist, Transfusiologist of the Department of Manufacturing, Clinical Transfusionology and Gravitational Blood Surgery, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine of the Moscow Healthcare Department,
e-mail: ladyginaea@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7343-0667>

Denis Yu. Logunov, Dr. Sci. (Biol.), Corresponding Member of the RAS, Deputy Director of the National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation,
e-mail: logunov@gamaleya.org
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4035-6581>

Inna V. Dolzhikova, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of the National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation,
e-mail: dolzhikova@gamaleya.org
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2548-6142>

Vladimir V. Ganchin, Deputy CEO, Director of the Department of Primary Healthcare Development, Center of Analytical Development of the Social Sector,
e-mail: GanchinVV@zdrav.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9138-6479>

Eugeniy A. Vasin, Analyst, City Hospital No. 52 of the Moscow Healthcare Department,
e-mail: spectrum48@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1439-9476>

Alexander I. Baykov, Manager, Center of Analytical Development of the Social Sector,
e-mail: baykovA11@zdrav.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6015-486X>

Буланов Андрей Юльевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением выездной реанимационной гематологической бригады ГБУЗ города Москвы «Городская клиническая больница № 52 Департамента здравоохранения города Москвы»,
e-mail: buldoc68@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-8145>

Боровкова Наталья Валерьевна, доктор медицинских наук, заведующая отделением биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»,
e-mail: borovkovanv@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8897-7523>

Петриков Сергей Сергеевич, член-корр. РАН, директор ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»,
e-mail: petricovss@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3292-8789>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 16.07.2020

Принята к печати: 27.07.2020

Andrey Yu. Bulanov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Advisory Transfusiological Service, City Hospital No. 52 of the Moscow Healthcare Department,
e-mail: buldoc68@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-8145>

Nataliya V. Borovkova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Biotechnology and Transfusionology, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine of the Moscow Department of Healthcare
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8897-7523>

Sergey S. Petrikov, Dr. Sci. (Med.), corresponding member of the RAS, Director of N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine of the Moscow Department of Healthcare,
e-mail: petricovss@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3292-8789>

*** Corresponding author**

Received 16 Jul 2020

Accepted 27 Jul 2020

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕР ПО ЕЕ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ

Вяткина О. И.¹, Потапнев М. П.^{1*}, Красько О. В.²

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 220053, Минск, Беларусь

²ГНУ «Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси», 220012, Минск, Беларусь

РЕЗЮМЕ

Введение. Проблема бактериальной контаминации компонентов крови сохраняется, несмотря на успехи выявления вирусного инфицирования доноров крови и уменьшение рисков неинфекционных осложнений переливания донорской крови и ее компонентов.

Цель: оценить динамику обнаружения микробной контаминации компонентов крови и меры по ее снижению.

Материалы и методы. Материалом исследования служили результаты микробиологических посевов компонентов крови, заготовленных в Республиканском научно-практическом центре трансфузиологии и медицинских биотехнологий (РНПЦ ТМБ) Минздрава Республики Беларусь в 2012–2018 гг., а также результаты исследования содержания аэрозольных частиц размером 0,5 и 5,0 мкм в 1 м³ воздуха и микробиологических испытаний воздуха производственных помещений отделения заготовки крови и ее компонентов за аналогичный период. В работе использованы микробиологические, визуальные, статистические методы.

Результаты. В период с 2012 по 2018 г. в РНПЦ ТМБ оценили динамику заготовки компонентов крови, отбора доз для микробиологического контроля, положительных результатов микробиологического контроля компонентов крови. Большинство положительных результатов микробиологического контроля концентратов тромбоцитов были связаны с дозами, заготовленными из цельной крови, но не полученными методом автоматического афереза. Выявлена тенденция к уменьшению инцидентности случаев микробной контаминации эритроцитсодержащих компонентов (ЭСК) донорской крови с 1,21 (95% ДИ 0,39–3,28) в 2012 г. до 0 (95% ДИ 0–0,8) ($p < 0,001$) в 2018 г. на 100 доз ЭСК, отобранных для микробиологического анализа. Это сопровождалось повышением частоты отбора доз ЭСК для анализа и проведением в 2015–2016 гг. организационных мероприятий по повышению микробиологической чистоты воздуха рабочих помещений отделения заготовки крови.

Заключение. Выявлено снижение в течение 2012–2018 гг. рисков бактериальной контаминации ЭСК, но не других компонентов крови за счет проведения комплекса мер при подготовке к аттестации по классам чистоты производственных помещений и других организационных мероприятий.

Ключевые слова: компоненты крови, бактериальная контаминация, мероприятия

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках «Разработать нормативное обеспечение микробиологического контроля в организациях переливания крови Республики Беларусь (2018–2020 гг.)» (№ госрегистрации 20181376).

Для цитирования: Вяткина О.И., Потапнев М.П., Красько О.В. Микробиологическая безопасность компонентов крови и эффективность мер по ее совершенствованию. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(3): 251–262. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-251-262>

MICROBIAL SAFETY OF BLOOD COMPONENTS AND EFFICACY OF MEASURES FOR ITS IMPROVEMENT

Viatkina O. I.¹, Potapnev M. P.^{1*}, Krasko O. V.²

¹Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies, 220053, Minsk, Belarus

²United Institute for Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, 220012, Minsk, Belarus

ABSTRACT

Introduction. The bacterial contamination of blood components represents an on-going challenge in transfusion medicine although dramatic achievements have been achieved in reducing remaining risk of viral infections of blood donors and non-infectious complications of blood transfusion.

Aim: to evaluate trends of bacterial contamination of blood components and measures for its reduction in one blood collection center in recent years.

Materials and methods. The research material presented is comprised of the results of microbiological testing of blood components, collected at the Republican Center for Transfusiology & Medical BioTechnologies, during 2012–2018, as well as the data of aerosol particles 0.5 and 5.0 μm in air volume of 1 m^3 and bacterial contamination of air on working areas. Both microbiological, visual, and statistical methods were used in the study.

Results. The data presents results of change in rate of blood components collection, samples taken for microbial analysis, and positive bacterial cultures in Belarusian Republican Center for Transfusiology & Medical Bio Technologies in 2012–2018. As shown, there was low rate of bacterial contamination of plasma and platelet components. The positive results of bacterial contamination of platelets were attributed to doses obtained from whole blood, but not by automatic apheresis. A trend in decrease in the rate of bacterial contamination frequency ($p < 0,001$) was observed for red cell components from 1,21 (95 % CI 0,39–3,28) in 2012 to 0 (95 % CI 0–0,8) in 2018 per each 100 doses, taken for microbial testing. This was associated with increasing the frequency of doses taken for microbial testing and carrying out the organizational measures in 2015–2016 to reduce airborne bacterial contamination in working areas of blood collection and separation.

Conclusion. The risks of bacterial contamination of erythrocyte — containing, but not other blood components in the organization of blood transfusions were reduced during 2012–2018 due to certification of working areas according to cleaning room classification and other organizational measures.

Keywords: blood components, bacterial contamination, organizational measures

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study was carried out in the framework of R&D (T) R “To develop regulatory support for microbiological control in blood transfusion organizations of the Republic of Belarus (2018–2020)” (state registration number 20181376).

For citation: Viatkina O.I., Potapnev M.P., Krasko O.V. Microbial safety of blood components and efficacy of measures for its improvement. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2020; 65(3): 251–262. (In Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-251-262>

Введение

Инфекционная безопасность донорской крови и ее компонентов за последние десятилетия значительно повысилась прежде всего за счет улучшения качества диагностики возбудителей вирусных инфекций, передающихся с переливанием крови и ее компонентов. На этом фоне успехи по снижению риска бактериальной контаминации компонентов крови, ведущей к развитию сепсиса у реципиентов, незначительны, что делает эту проблему актуальной [1–4]. В период с 2012 по 2016 г. в США отмечено 18 случаев трансфузий компонентов крови, которые были контаминированы бактериями, что привело к развитию у реципиентов сепсиса и смертельным исходам. Они включали 7 случаев, связанных с переливанием эритроцитсодержащих компонентов (ЭСК), 8 случаев, связанных с переливанием аферезных концентратов тромбоцитов (КТ), 2 случая, связанных с переливанием пулированных КТ, полученных из дозы крови, и 1 случай, связанный с переливанием свежезамороженной плазмы (СЗП). Среди доказанных причин смерти реципиентов, связанных с переливанием компонентов крови, бактериальная контаминация занимает 4-е место (10% случаев) после обусловленного трансфузией острого повреждения легких (30% случаев), трансфузионной циркуляторной перегрузки (18% случаев) и трансфузионных гемолитических реакций (18% случаев) [5]. Анализ причин гемотрансмиссивных инфекций за период 2010–2016 гг. в США показал, что 69% (37 из 54 случаев) были бактериального происхождения, 30% (16 из 54 случаев) — паразитарного, 2% (1 из 54) — вирусного [6]. Это потребовало разработки стратегии снижения риска бактериальной контаминации донорской крови и ее компонентов [2, 7–9]. Первоначально исходили из того, что микробная контаминация компонентов может происходить с кожи донора, с оборудования для заготовки крови, из донорской крови, попадать в кровь в процессе обработки и хранения. На основании этого мероприятия, снижающие риск микробной контаминации, включали совершенствование рецептуры (использование хлоргексидина) и двукратную обработку кожи локтевого сгиба, наличие дополнительного контейнера для заготовки первой порции (40–50 мл) донорской крови, проведение бактериологического тестирования компонентов крови в сроки через 24 ч после заготовки. Это позволило снизить риск микробной контаминации на 50–75% [7, 8, 10]. Внедрение системы гемонадзора (hemovigilance) также способствовало снижению риска микробной контаминации компонентов крови [11]. Широкое применение для микробиологического анализа получили системы ускоренного бактериального контроля типа BacT/ALERT [7, 10, 12], позволившие снизить риски на 2/3 от предыдущего уровня [12]. Тем не менее считается, что только 20–40% контаминиро-

ванных доз компонентов крови выявляются при таком тестировании [9]. Поэтому совершенствование стратегии снижения риска микробной контаминации компонентов крови включало следующие основные мероприятия: применение патогенредукции для СЗП и КТ, повторное тестирование на бактериальные продукты методами иммуноанализа, повторное бактериологическое тестирование [10, 12, 13].

Считается, что наибольший риск бактериальной контаминации имеют КТ, которые хранятся при комнатной температуре [11]. Помимо КТ, опасность микробной контаминации высока для ЭСК, имеющих более длительные (до 28–45 дней) сроки хранения до клинического использования, что увеличивает риск выявления положительных результатов бактериальной контаминации [14, 15].

Цель настоящего исследования — оценить динамику обнаружения микробной контаминации компонентов крови и меры по ее снижению.

Материалы и методы

Материалом исследования служили результаты микробиологических посевов компонентов крови, заготовленных в Республиканском научно-практическом центре трансфузиологии и медицинских биотехнологий (РНПЦ ТМБ) Министерства здравоохранения Республики Беларусь в 2012–2018 гг., а также результаты исследования содержания аэрозольных частиц размером 0,5 и 5,0 мкм в 1 м³ воздуха ($n = 19\,008$) и микробиологических испытаний воздуха производственных помещений отделения заготовки крови и ее компонентов ($n = 21\,209$) за аналогичный период.

Микробиологический анализ проводили в соответствии с требованиями приказа Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 325 от 6 апреля 2018 года «Об утверждении Перечня требований по безопасности и качеству крови, ее компонентов, заготавливаемых от доноров или производимых различными методами из крови доноров и предназначенных для оказания медицинской помощи и иных целей». Микробиологическому анализу подвергали 1% от всех заготовленных доз компонентов крови, но не менее 4 доз в месяц. Для микробиологического анализа отбирали дозы компонентов крови через 24 часа от момента заготовки (ЭСК, КТ, СЗП), а также ежеквартально к концу карантинного 3-месячного хранения дополнительно отбирались для исследования 10 доз СЗП. Проведение микробиологического анализа осуществляли работники лаборатории бактериологического контроля отдела управления качеством и внутреннего аудита РНПЦ ТМБ. Был использован автоматический анализатор гемокультур BacT/ALERT 3D, использующий колориметрический метод детекции роста бактерий за счет изменения цвета красителя при изменении pH среды

флакона при размножении бактерий во время культивирования. Питательные среды BacT/ALERT могут определить 98% изолятов бактерий, грибов и дрожжей в течение 24–48 часов инкубации. При получении первично положительного результата выполняли пересев из всех подозрительных флаконов на мясо-пептонный агар (МПА) (с последующей инкубацией в течение 24–48 часов при температуре $32,5 \pm 2,5$ °C) и приготавливали мазки с окраской по Граму для микроскопического подтверждения микробного роста.

Исследования содержания аэрозольных частиц в воздухе проводили 1 раз в неделю с использованием счетчика аэрозольных частиц AEROTRACK 9306 (TSI Inc., США) в соответствии с инструкцией по использованию аппарата. Минимальное количество точек отбора и объем пробы воздуха для оценки концентрации аэрозольных частиц определялся в соответствии с требованиями ТКП 435–2017 (33050) «Производство лекарственных средств. Квалификация чистых помещений».

Микробиологические испытания воздуха выполняли во время работ по заготовке крови в помещениях отделения заготовки крови РНПЦ ТМБ. Кратность отбора проб воздуха колебалась от 1 раза в день до 1 раза в неделю в зависимости от класса чистоты помещения и критичности выполняемой процедуры. Количество контрольных точек зависело от площади и категоричности помещения. В каждой контрольной точке пробы отбирали седиментационным методом на две чашки Петри (диаметр 90 мм) с питательной средой для выращивания бактерий (среда № 1) и на две чашки Петри со средой для выращивания грибов (среда № 2). Время экспозиции чашек с питательными средами — не менее времени выполнения критических операций, но не более 4-х часов. После отбора проб воздуха чашки помещали в термостат для последующего культивирования в течение 5 суток при температуре $32,5 \pm 2,5$ °C (среда № 1) и $22,5 \pm 2,5$ °C (среда № 2). После окончания инкубации проводился подсчет ко-

личества колоний микроорганизмов, образовавшихся в каждой чашке Петри. Результаты учитывали как количество колониеобразующих единиц за 4 часа бактерий или грибов на чашку Петри.

На основании результатов оценки ключевых элементов (воздух, персонал, поверхности) программы мониторинга производственной среды отделения заготовки крови при получении первично положительных результатов оценки риска микробной контаминации компонентов крови проводилось эпидемиологическое расследование каждого случая бактериальной контаминации с целью установления источника контаминации. Анализ результатов микробиологического мониторинга позволил установить источники контаминации в 13 случаях расследования причин бактериальной контаминации компонентов крови (в одном случае источник контаминации установлен не был).

Статистическая обработка данных. Данные представлены в количественном выражении по годам исследования. При расчете интенсивности контроля и случаев положительных проб принимался во внимание пуассоновский характер распределения редких событий. Расчеты проводились в специализированном пакете Join Point версия 4.5. Использовалась пуассоновская модель трендов интенсивности событий во времени. Ежегодные частоты рассчитывались на 100 доз. Уровень статистической значимости в исследовании (α) принимался равным $\alpha = 0,05$.

Результаты

Микробиологическая контаминация компонентов крови и профиль выделенных микроорганизмов

Микробиологический анализ компонентов крови, отобранных при их заготовке в РНПЦ ТМБ, дал единичные положительные результаты (от 1 до 5 случаев в год) в течение 2012–2015 гг. (табл. 1). В 2017 и 2018 гг.

Таблица 1. Результаты микробиологического контроля качества компонентов крови
Table 1. Results of blood components microbiological testing

| Компоненты крови <i>Blood components</i> | Частота положительных результатов микробиологического анализа компонентов крови, годы <i>Number of positive results of blood components microbiological testing per total tested units, year</i> | | | | | | | |
|---|---|-------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------------------|
| | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | Всего <i>Total</i> |
| ЭСК <i>Red blood cells</i> | 4/331 | 1/211 | 1/284 | 2/567 | 0/415 | 0/792 | 0/592 | 8/3192 |
| КТ, полученные из дозы крови* <i>Platelets* (single units)</i> | 0/338 | 1/410 | 0/472 | 1/538 | 1/328 | 0/236 | 0/126 | 3/2448 |
| Компоненты плазмы <i>Plasma components</i> | 0/399 | 1/318 | 0/364 | 2/630 | 0/257 | 0/310 | 0/376 | 3/2654 |
| Все компоненты <i>Total blood components</i> | 4/1068 | 3/939 | 1/1120 | 5/1735 | 1/1000 | 0/1338 | 0/1094 | 14/8294 |

Примечание. * — микробиологический контроль КТ, полученных методом автоматического афереза, всегда давал отрицательный результат.
Note. * — the results of bacterial contamination of platelets apheresis were always negative.

положительные результаты отсутствовали. Наибольшее количество положительных результатов было выявлено при микробиологическом анализе ЭСК, и наименьшее — при анализе аферезных КТ и компонентов плазмы. Анализ выросших культур микроорганизмов показал, что компоненты крови были контаминированы грамположительными кокками — представителями семейства *Staphylococcus* spp. ($n = 12$) и в единичных случаях — грамположительными палочками *Propionibacterium* spp. ($n = 1$) и грамтрицательными палочками *Escherichia coli* ($n = 1$). Среди грамположительных кокков *Staphylococcus* spp. выявлены *S. epidermidis* ($n = 8$), а также *S. saprophyticus* ($n = 4$). ЭСК были контаминированы как грамположительными кокками (*S. epidermidis*, $n = 5$, *S. saprophyticus*, $n = 2$), так и грамположительной палочкой (*Propionibacterium* spp., $n = 1$).

Из бактериально контаминированных КТ были выделены *Escherichia coli* ($n = 1$), *S. saprophyticus* ($n = 1$), *S. epidermidis* ($n = 1$). Компоненты плазмы были контаминированы *S. epidermidis* ($n = 2$), *S. saprophyticus* ($n = 1$).

Расследование причин положительных результатов микробиологического анализа позволило установить источники контаминации ($n = 13$). Медицинский персонал ($n = 12$) чаще всего выступал источником контаминации грамположительными кокками (*Staphylococcus* spp.). Аэрозольные частицы размером 5,0 мкм рассматривались как возможный источник грамположительных палочек (*Propionibacterium*) в 1 случае на основании идентичных фенотипических характеристик бактерий, выделенных при микробиологическом исследовании воздуха и компонента крови (ЭСК). При этом учитывали тот факт, что количество частиц размером 0,5 мкм в контрольных точках соответствовало требованиям, а количество частиц размером 5,0 мкм превышало допустимые значения более чем в 3,1 раза. Один источник контаминации не был установлен (для КТ — *Escherichia coli* ($n = 1$)).

Связь микробиологической контаминации с объемом заготовки и отбора доз компонентов крови для анализа

Оценка связи частоты положительных результатов микробиологического контроля отдельных компонентов крови (в первую очередь — ЭСК и КТ) с объемами заготовки и количеством отобранных проб для контроля показала, что в течение 2012–2018 гг. прирост объема заготовки доз ЭСК составил в среднем 13,83% (табл. 2). За это время наблюдался статистически значимый прирост количества доз ЭСК, отобранных для микробиологического контроля ($p = 0,043$), который составил 1,01 (95% доверительный интервал (ДИ) 0,91–1,13) в 2012 г. и 1,53 (95% ДИ 1,41–1,65) в 2018 г. в пересчете на 100 заготовленных доз компонента крови. Это сопровождалось статистически значимым снижением частоты выявления положительных результатов микробиологического анализа ЭСК ($p < 0,001$) с 1,21 (95% ДИ 0,39–3,28) в 2012 г. до 0 (95% ДИ 0–0,8) в 2018 г. на 100 доз ЭСК, отобранных для микробиологического анализа. Ежегодное уменьшение количества положительных результатов микробиологического контроля за этот период составило 38,3% (95% ДИ 28,2–47,0%).

При микробиологическом контроле доз КТ, заготовленных аферезным способом, не было выявлено положительных проб за все указанные годы наблюдения (2012–2018 гг.). Среднее количество доз КТ, отобранных для микробиологического исследования, составило 1,07 на 100 заготовленных доз аферезных тромбоцитов (95% ДИ 1,01–1,13) (табл. 3). Микробиологический контроль доз КТ, заготовленных из цельной крови, периодически давал положительные результаты без выраженной тенденции к изменению за наблюдаемый период (наблюдалось незначительное нарастание частоты количества положительных результатов на 0,17% в год). При этом в период с 2012 по 2015 г. наблюдалась

Таблица 2. Соотношение количества заготовленных доз, отобранных доз для микробиологического анализа и положительных результатов микробиологического анализа ЭСК

Table 2. Relationship of the number of collected red cell units, selected units for microbiological testing, and positive results of bacterial contamination

| Год Year | Количество заготовленных доз ЭСК крови в год* Number of collected red blood cell units per year* | Количество отобранных доз ЭСК для микробиологического контроля в год Number of red blood cell units, selected for microbiological testing per year | Количество положительных результатов микробиологического контроля в год Number of positive results of microbiological testing per year |
|-------------|---|---|---|
| 2012 | 32768 | 331 | 4 |
| 2013 | 32733 | 211 | 1 |
| 2014 | 36079 | 284 | 1 |
| 2015 | 45567 | 567 | 2 |
| 2016 | 40600 | 415 | 0 |
| 2017 | 42860 | 792 | 0 |
| 2018 | 38819 | 592 | 0 |

Примечание.* — одна доза ЭСК принята в среднем как 240 мл.

Note. * — one red cell unit has a mean volume of 240 ml.

Таблица 3. Соотношение количества заготовленных доз, отобранных доз для микробиологического анализа, и положительных результатов микробиологического анализа концентрата тромбоцитов**Table 3.** The relationship of the number of collected units, selected units for microbiological testing and positive results for bacterial contamination of platelet component units

| Год Year | Объем заготовки КТ в год (дозы) The number of collected platelet units per year | | | Объем контроля КТ в год (дозы) The number of platelet units selected for microbiological testing per year | | | Количество положительных результатов микробиологического контроля в год The number of positive results for bacterial contamination per year | |
|-------------|--|--|---|--|--|---|--|---|
| | всего total | методом автоматического афереза apheresis | из дозы крови from single blood dose | всего total | методом автоматического афереза apheresis | из дозы крови from single blood dose | автоматического афереза apheresis | из дозы крови from single blood dose |
| 2012 | 27934 | 22348 | 5586 | 550 | 212 | 338 | 0 | 0 |
| 2013 | 21636 | 17304 | 4327 | 610 | 200 | 410 | 0 | 1 |
| 2014 | 21486 | 17190 | 4296 | 676 | 204 | 472 | 0 | 0 |
| 2015 | 20082 | 16065 | 4017 | 734 | 196 | 538 | 0 | 1 |
| 2016 | 21586 | 17268 | 4318 | 520 | 192 | 328 | 0 | 1 |
| 2017 | 23598 | 18878 | 4720 | 432 | 196 | 236 | 0 | 0 |
| 2018 | 18529 | 14824 | 3705 | 252 | 126 | 126 | 0 | 0 |

Примечание. Одна доза концентрата тромбоцитов (КТ) из дозы крови принята как 50 мл, при автоматическом аферезе — 4–6 доз КТ; среднее значение количества доз КТ, заготовленных автоматическим методом, за период наблюдения составляет 80%.

Note. Single unit of platelet has a volume of 50 ml, platelet apheresis is estimated as 4–6 single units of platelets; mean value of platelet apheresis is estimated as 80% of total platelet units.

Таблица 4. Соотношение количества заготовленных доз, отобранных доз для микробиологического анализа, и положительных результатов микробиологического анализа компонентов плазмы**Table 4.** Relationship of the number of collected plasma component units, selected units for microbiological testing, and positive results of bacterial contamination

| Годы Year | Объем заготовки компонентов плазмы в год (дозы) Number of collected plasma units per year | Объем контроля компонентов плазмы в год (дозы) Number of plasma units, selected for microbiological testing per year | Количество положительных результатов микробиологического контроля в год Number of positive results of microbiological testing per year |
|--------------|--|---|---|
| 2012 | 47828 | 399 | 0 |
| 2013 | 49226 | 318 | 1 |
| 2014 | 66880 | 364 | 0 |
| 2015 | 57863 | 630 | 2 |
| 2016 | 62583 | 257 | 0 |
| 2017 | 61100 | 310 | 0 |
| 2018 | 62279 | 376 | 0 |

Примечание. Средняя доза компонента плазмы принята за 260 мл.

Note. Mean value of plasma component is estimated as 260 ml.

тенденция к увеличению частоты отбора проб для микробиологического анализа ($p = 0,064$) с 6,05 (95% ДИ 5,45–6,72) в 2012 г. до 13,39 (95% ДИ 12,36–14,49) в 2015 г. на 100 заготовленных доз КТ из цельной крови. В период с 2015 по 2018 гг. наблюдалось статистически значимое уменьшение частоты отбора доз КТ, полученных из цельной крови ($p = 0,031$) с 13,39 (95% ДИ 12,36–14,49) в 2015 г. до 3,4 (95% ДИ 2,85–4,05) в 2018 г. на заготовленных 100 доз. В целом за весь период исследования 2012–2018 гг. частота отбора образцов для микробиологического анализа по вышеназванным компонентам не изменялась и составила 1,16 (95% ДИ 1,11–1,12) на 100 заготовленных доз КТ из дозы крови. За весь исследуемый период сохранялась высокая

частота отбора проб КТ из дозы крови для проведения микробиологического анализа, которая составила в среднем 7,9 (95% ДИ 7,61–8,21) на 100 заготовленных доз в год. При этом за период 2012–2018 гг. не выявлено статистически значимых тенденций изменения частоты положительных результатов микробиологических посевов КТ, полученных из дозы крови ($p = 0,171$), за период исследования изучаемый показатель составил 0,12 (95% ДИ 0,03–0,33) на 100 доз, отобранных для микробиологического анализа.

Сопоставление объемов заготовки, обследования и выявления положительных результатов микробиологического контроля заготовленных доз компонентов плазмы представлены в таблице 4. Только

в 2013 и 2015 гг. были выявлены положительные результаты микробиологического контроля доз компонентов плазмы вне зависимости от объема заготовки и объема отбора проб для микробиологического обследования, составлявшего 0,4–0,9% от заготовленных.

Как видно из приведенных таблиц, наиболее часто проводился отбор гемоконтейнеров для микробиологического анализа КТ, полученных из дозы крови, наименее часто — СЗП (рис. 1). При этом до 2015 г. количество отобранных для микробиологического анализа доз КТ из цельной крови увеличивалось на 26,2% в год ($p = 0,064$), далее статистически значимо уменьшалось на 38,7% в год ($p = 0,031$). В течение 2012–2018 гг. наблюдался устойчивый рост количества доз ЭСК, отбираемых для микробиологического анализа (в среднем на 13,8% в год, $p = 0,042$). При этом в 2012–2015 гг. количество отобранных для микробиологического контроля доз КТ из дозы крови и ЭСК было сопоставимо ($p = 0,194$). После 2015 г. отмечено уменьшение количества отобранных для проведения микробиологического анализа доз КТ, заготовленных из цельной крови, в то время как количество доз ЭСК, отобранных для микробиологического контроля, сохраняло тенденцию к увеличению ($p < 0,001$). Количество доз СЗП, отбираемых для микробиологического контроля, не изменялось на протяжении всего времени наблюдения ($p = 0,446$).

Такой же сравнительный подход был использован для оценки частоты положительных результатов микробиологического контроля доз компонентов крови, отобранных для анализа (рис. 2). Количество случаев микробной контаминации ЭСК в пересчете на 100 отобранных доз для микробиологического анализа в течение 2012–2018 гг. уменьшалось в среднем на 38,3% в год ($p < 0,001$). Количество положительных результатов микробиологического контроля КТ из дозы крови и СЗП не изменялось на протяжении времени наблюдения ($p = 0,171$ и $p = 0,662$ соответственно).

В целом по всем компонентам донорской крови частота положительных результатов микробиологического контроля имела тенденцию к снижению ($p = 0,086$), в том числе в 2012 г. составила 0,31 (95% ДИ 0,1–0,86), а в 2018 г. — 0 (95% ДИ 0–0,39) на 100 доз, отобранных для микробиологического анализа.

Мероприятия по снижению микробной контаминации донорской крови

Были проведены разнообразные мероприятия по повышению микробиологической безопасности реализуемых компонентов крови (табл. 5). При этом ориентировались на требования специализированного комитета Совета Европы по переливанию крови [17] в связи с отсутствием аналогичных регламентирующих актов в Республике Беларусь, которые в настоящее время разрабатываются.

Обсуждение

Вопросы микробиологической безопасности являются постоянными для организаций, заготавливающих и распределяющих компоненты крови. При существующих технологиях заготовки в донорскую кровь попадает 10–100 жизнеспособных микробных частиц [18], что, несмотря на микробицидные свойства крови, создает риск ее инфицирования. Поэтому актуальна проблема микробиологического контроля заготавливаемых компонентов крови с целью снижения риска их бактериальной контаминации. Проблема эта многогранна и включает различные подходы (табл. 5). Один из подходов — повышение чувствительности микробиологического анализа, предполагающее внедрение нескольких систем скрининга, включая систему отсроченного, повторного и отдаленного тестирования, в том числе к концу сроков хранения, использование достаточного объема материала для анализа [11, 16, 19, 20]. В то же время остается недостаточно реализованной стратегия ускоренного бактериологического контроля компонентов крови непосредственно перед реализацией (point of release), основанная на тестировании в реализуемом компоненте крови микробных пептидогликанов, бактериальных липополисахаридов или липотейховой кислоты методами иммуноанализа [21]. Такая стратегия, рекомендованная Управлением по контролю за продуктами питания и лекарственными препаратами (Food and Drug Administration), пока не является рутинной и общепринятой [12]. Также актуальны меры по селекции безопасного контингента доноров крови, внедрение системы гемонадзора (haemovigilance) [11]. Общепринятыми остаются использование конструкций системы для забора крови с добавлением бактивама, а также преимущественного использования методов автоматического афереза для получения компонентов крови [3, 7, 15]. По оценочным данным [15], это позволяет снизить количество переливаний бактериально контаминированных компонентов крови и на 60–83% — количество смертельных случаев, связанных с ними. В РНПЦ ТМБ внедрен и используется метод патогенредукции СЗП и КТ, в то же время широкое внедрение этих методов ограничивается достаточно благоприятной эпидемиологической обстановкой среди доноров крови Республики Беларусь и затратностью метода патогенредукции [9]. Проведенный в РНПЦ ТМБ комплекс мер в течение 2012–2018 гг. был связан с улучшением условий производства, налаживанием системы контроля аэрозольных частиц, аттестацией помещений по классам чистоты. В 2015 г. была переоснащена система воздухоподготовки и проведена аттестация рабочих помещений по классу чистоты в отделении заготовки крови и ее компонентов в РНПЦ ТМБ. Фракционирование цельной крови стали осуществлять в помещении

Таблица 5. Мероприятия, использованные для снижения риска микробной контаминации компонентов крови
Table 5. The main measures used to reduce risk of microbial contamination of blood components

| № | Основные мероприятия Main events | Год внедрения The year of introduction | Характеристика показателей (2018 г.) Characteristics of indicators (2018) | Ожидаемые результаты внедрения Expected results |
|---|--|---|--|--|
| 1 | Селекция доноров Blood donor selection | 2004 | 75,1 % повторных доноров, 88,1 % допущенных к кроводаче 75.1 % repeated donors, 88.1 % of accepted for blood donation | Тщательное клинико-лабораторное обследование не допускает кроводачу лиц со скрытыми инфекциями [7] Careful clinical and laboratory examination does not permit blood donations of subjects with occult infections [7] |
| 2 | Аппаратная заготовка крови Automated blood collection | 2007 | 80,0% КТ, 76,2% СЗП, 0% ЭСК 80% PC, 76.2% FFP, 0% RBC | Автоматическая заготовка крови и ее компонентов снижают риск внешней микробной контаминации [8] Automated blood collection decreases risk of microbial contamination [8] |
| 3 | Патогенредукция КТ и СЗП Pathogen reduction for PC and FFP | 2011 | 16,2% КТ, 1% СЗП 16,2% PC, 1% FFP | Снижение риска микробной контаминации для переливания иммунокомпрометированным реципиентам [7, 12] Decrease of microbial contamination of blood component for immunocompromised patients [7, 12] |
| 4 | Двукратная обработка кожи локтевого сгиба Double treatment of donor arm | 2010 | 100% охват доноров крови 100% of blood donors | Внедрение СОП* улучшило показатели отсутствия высева микробов до 94% [7, 12] Introduction of SOP* improves indicators of sterility up to 94% [7, 16] |
| 5 | Переход на забор крови с бактивамом Use of blood collection into blood collection system with bactivam | 2012 | 75,3% объема заготовки донорской крови 75.3% of total volume of collected donor blood | Снижение риска микробной контаминации на 30–40% [7] Decrease the risk of microbial contamination by 30–40% [7] |
| 6 | Мониторинг окружающей среды Environment monitoring | 2015 | Увеличен с 5 до 9 перечень контролируемых показателей, увеличено с 3–4 до 9–29 количество контрольных точек забора материала для анализа Increase from 5 to 9 in the number of controlling indicators, increase from 3–4 to 9–29 in the number of controlling sites of sample collection for testing | Уменьшение количества аэрозольных частиц размером 0,5 и 5,0 мкм достоверно снизило частоту положительных результатов микробиологического анализа воздуха и компонентов крови [16] Decreasing the number of aerosolic particles size 0.5 and 5.0 μm was significantly associated with a lower frequency of positive results of microbial testing of air and blood component samples [16] |
| 7 | Увеличение количества и объема анализируемых образцов Increasing the number and volume of samples for testing | 2015 | Вместо 1 % от объема заготовки внедрена формула $0,4 \times \sqrt{n}$, объем образца 10 или 20 мл [†] , используется отсроченное (на 24 часа) тестирование, с 2018 г. начат отбор образцов к концу хранения компонента крови Instead of 1% from number of collected blood components the formula $0,4 \times \sqrt{n}$ was introduced; the volume of blood sample became 10 or 20 ml; Delayed testing is used (for 24 hours); Since 2018, secondary bacterial culture has been introduced | Требования приведены в соответствие с общеевропейскими [17] Requirements are implemented according to Guide to the preparation, use, and quality assurance of blood components in EU [17] |

Примечание. * СОП — стандартная операционная процедура, † — объем забора материала — не менее 10 мл при тестировании на аэробные микроорганизмы и не менее 20 мл — на анаэробные микроорганизмы при использовании аппарата BacT/ALERT.

Note. PC — platelet concentrate, FFP — fresh frozen plasma, RBC — red blood cells; * — standard operation procedure, † — the volume of collected blood samples are 10 ml for testing of aerobic microbes and 20 ml for testing of anaerobic microbes using BacT/ALERT.

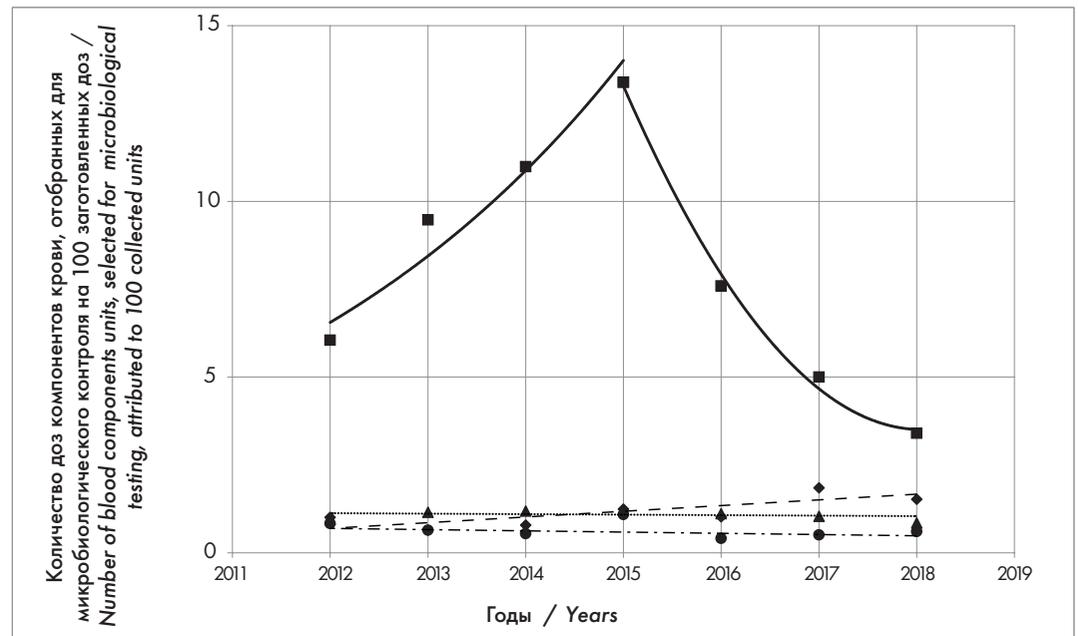


Рисунок 1. Тренды изменения в 2012–2018 гг. количества доз ЭСК, КТ и компонентов плазмы донорской крови, отобранных для микробиологического контроля (в пересчете на 100 заготовленных доз в год)

Figure 1. Trends in 2012–2018 for number of units the red cell components, platelet concentrates, plasma components, selected for microbiological testing (attributed to 100 collected units per year)

Обозначения расчетных значений и линий, отражающих модельные тренды:

Marking of values and lines: reflecting model trends:

◆ (—) ЭСК/ red cell components;

■ (—) КТ из дозы крови/ platelet components (single unit);

▲ (····) КТ, полученные методом автоматического афереза/ platelet apheresis;

● (---) компоненты плазмы/ plasma components.

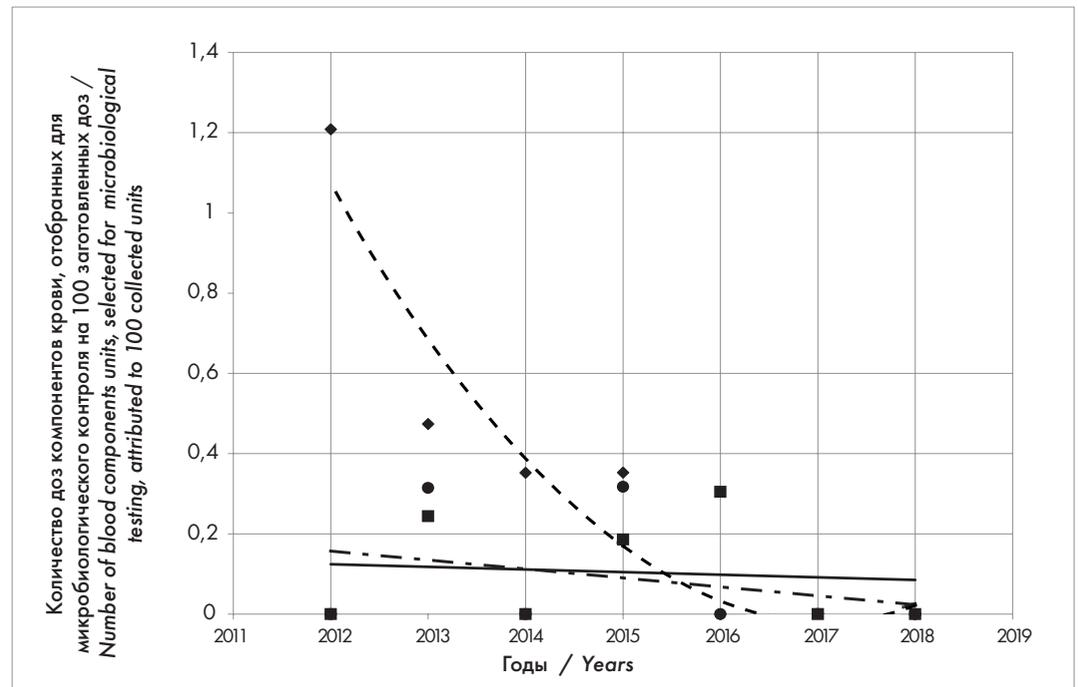


Рисунок 2. Тренды выявления в 2012–2018 гг. положительных результатов микробиологического контроля ЭСК, КТ (полученных из дозы крови) и компонентов плазмы донорской крови (в пересчете на 100 апробированных доз в год). Данные по КТ, полученному методом автоматического афереза, не представлены в связи с отсутствием положительных результатов микробиологического контроля

Обозначения — см. рис. 1

Figure 2. Trends in 2012–2018 for positive results of microbiological testing of red cell components, platelet concentrates (single units), plasma components, attributed to 100 units, selected for bacterial contamination assessment. Data for bacterial contamination of platelet apheresis do not presented due to negative results of testing.

Figure marking — see Fig. 1

класса чистоты В. Учитывая, что в 93,3% случаев основной причиной контаминации компонентов крови было несоблюдение персоналом требований санитарно-гигиенического контроля и нарушение требований условий заготовки, была проведена внеочередная аттестация медицинского персонала. С декабря 2015 г. была внедрена система мероприятий по микробиологическому мониторингу производственной среды в соответствии с требованиями ТКП 030–2017 (33050) «Надлежащая производственная практика». Начиная с марта 2016 г., была внедрена система мониторинга аэрозольных частиц размером 0,5 и 5,0 мкм в производственных помещениях. С учетом площади производственных помещений дополнительно к ультрафиолетовым облучателям были установлены проточные рециркуляторы. Проведенный комплекс профилактических мероприятий в производственных помещениях отделения заготовки крови реализовался в улучшении как микробиологических показателей воздуха рабочих помещений, так и микробиологической обсемененности компонентов крови [16]. Учитывая, что заготовка ЭСК требует значительного объема ручного труда сотрудников, был проведен анализ активности персонала в рабочей зоне, оценены эффективность процедуры подготовки рабочих помещений и правильность выполнения персоналом стандартных операционных процедур по производимым работам.

Наконец, в соответствии с международными рекомендациями [12, 13] было начато проведение отсроченного тестирования микробной контаминации компонентов крови к концу сроков хранения (ЭСК — 28 дней, КТ — 7 дней), что является предметом дальнейшего рассмотрения. Не всегда результаты микро-

биологического анализа компонента крови прямо ассоциируются с риском инфицирования реципиента при переливании компонента крови. Бактериальную контаминацию КТ чаще выявляют при их хранении в плазме, а не в добавочном (PAS) растворе. В то же время доказанные случаи трансмиссивных инфекций при переливании КТ чаще выявлялись при их хранении в PAS-растворе [22].

Таким образом, в настоящей работе выявлена статистически значимая тенденция к уменьшению количества положительных результатов микробиологического контроля ЭСК донорской крови, заготовленных в 2012–2018 гг. в РНПЦ ТМБ. При этом результаты микробиологического контроля КТ, полученных методом автоматического афереза, были отрицательными, а для КТ, полученных из цельной крови, и СЗП — редкими случаями бактериальной контаминации (по 3 случая в течение 7 лет). Увеличение количества доз ЭСК, отбираемых для микробиологического анализа, сопровождалось уменьшением частоты выявления положительных результатов микробной контаминации заготовленных ЭСК. Своевременное проведение аттестации на соответствие классу чистоты рабочих помещений отделения заготовки крови, внедрение с 2015 г. системы микробиологического мониторинга чистых производственных помещений (воздух, поверхности, персонал) оказали влияние на снижение риска бактериальной контаминации компонентов крови, связанного с факторами внешней среды. Достигнутое снижение рисков бактериальной контаминации компонентов крови требует продолжения системной работы, в том числе внедрения новых подходов профилактики и микробиологического анализа.

Литература

1. Klein H.G., Anderson D., Bernardi M-J. et al. Pathogen inactivation: making decisions about new technologies. Report of a consensus conference. *Transfusion*. 2007; 47(12): 2338–47. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01512.x.
2. Никитин И.К. Бактериальная контаминация компонентов крови. *Гематология и трансфузиология*. 2010; 55(5): 10–3.
3. Потапнев М.П., Еремин В.Ф. Инфекционная безопасность донорской крови. Проблемы и решения. *Гематология и трансфузиология*. 2013; 58(3): 49–56.
4. Чеботкевич В.Н., Кайтанджан Е.И., Киселева Е.Е. и др. Проблемы бактериальной безопасности гемотрансфузий. *Трансфузиология*. 2015; 16(3): 14–25.
5. US Food and Drug Administration. Fatalities reported to FDA following blood collection and transfusion: annual summary for fiscal year 2016. [Online]. 2016. Available: [https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Safety-Availability/ReportaProblem/Transfusion Donation Fatalities/UCM598243.pdf](https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Safety-Availability/ReportaProblem/Transfusion%20Donation%20Fatalities/UCM598243.pdf) (Accessed 22 Apr 2018).
6. Haas K.A., Sapiano M.R.P., Savinkina A. et al. Transfusion-transmitted infections reported to the National Safety Network hemovigilance module. *Transfus Med Rev*. 2019; 33(2): 84–91. DOI: 10.1016/j.tmr.2019.01.001.
7. McDonald C.P. Bacterial risk reduction by improved donor arm disinfection, diversion and bacterial screening. *Transfus Med*. 2006; 16: 381–96. DOI: 10.1111/j.1365-3148.2006.00697.x.

References

1. Klein H.G., Anderson D., Bernardi M-J. et al. Pathogen inactivation: making decisions about new technologies. Report of a consensus conference. *Transfusion*. 2007; 47(12): 2338–47. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01512.x.
2. Nikitin I.K. Bacterial contamination of blood components. *Gematologiya I Transfusiologiya*. 2010; 55(5): 10–3 (In Russian).
3. Potapnev M.P., Eremin V.F. Donor blood infection safety: Problems and solutions. *Gematologiya I Transfusiologiya*. 2013; 58(3): 49–56 (In Russian).
4. Chebotkevich V.N., Kaitandzhan E.I., Kiseleva E.E. et al. Problems of bacterial safety of blood transfusion. *Transfusiologiya*. 2015; 16(3): 14–25 (In Russian).
5. US Food and Drug Administration. Fatalities reported to FDA following blood collection and transfusion: annual summary for fiscal year 2016. [Online]. 2016. Available: [https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Safety-Availability/ReportaProblem/Transfusion Donation Fatalities/UCM598243.pdf](https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Safety-Availability/ReportaProblem/Transfusion%20Donation%20Fatalities/UCM598243.pdf) (Accessed 22 Apr 2018).
6. Haas K.A., Sapiano M.R.P., Savinkina A. et al. Transfusion-transmitted infections reported to the National Safety Network hemovigilance module. *Transfus Med Rev*. 2019; 33(2): 84–91. DOI: 10.1016/j.tmr.2019.01.001.
7. McDonald C.P. Bacterial risk reduction by improved donor arm disinfection, diversion and bacterial screening. *Transfus Med*. 2006; 16: 381–96. DOI: 10.1111/j.1365-3148.2006.00697.x.

8. Stormer M., Wood E.M., Gathof B. Microbial safety of cellular therapeutics – lessons from over ten years' experience in microbial safety of platelet concentrates. *ISBT Science Series*. 2019; 14: 37–44. DOI 10.1111/voxs.12452.
9. Kacker S., Bloch E.M., Ness P.M. et al. Financial impact of alternative approaches to reduce bacterial contamination of platelet transfusions. *Transfusion*. 2019; 59: 1291–9. DOI: 10.1111/trf.15139.
10. Bloch E.M., Marshall C.E., Boyd J.S. et al. Implementation of secondary bacterial culture testing of platelets to mitigate residual risk of septic transfusion reactions. *Transfusion*. 2018; 58(7): 1574–7. DOI: 10.1111/trf.14618.
11. Levy J.H., Neal M.D., Herman J.H. Bacterial contamination of platelets for transfusion: strategies for prevention. *Crit Care*. 2018; 22: 271. DOI: 10.1186/s13054-018-2212-9.
12. Sachais B.S., Paradiso S., Strauss D., Shaz B.H. Implication of US Food and Drug Administration draft guidance for mitigating septic reactions from platelet transfusions. *Blood Adv*. 2017; 1(15): 1142–7. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017008334.
13. FDA-CBER. Bacterial risk control strategies for blood collection establishments and transfusion services to enhance the safety and availability of platelets for transfusion. December 2018 [cited 2019 January 4]. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Blood/UCM627407.pdf>.
14. Zimrin A.B., Hess J.R. Current issues related to the transfusion of stored red blood cells. *Vox Sang*. 2009; 96: 93–103. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2008.01117.x.
15. Erony S.M., Marshall C.E., Gehrie E.A. et al. The epidemiology of bacterial culture-positive and septic transfusion reactions at a large tertiary academic center: 2009 to 2016. *Transfusion*. 2018; 58: 1933–9. DOI: 10.1111/trf.14789.
16. Вяткина О.И., Потапнев М.П. Анализ содержания аэрозольных частиц и микробиологической чистоты воздуха рабочих помещений организации переливания крови. *Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа*. 2018; 4(4): 497–505.
17. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood component. Recommendation No.R (95) 15. 19th Edition. Strasbourg. 2017.
18. Brecher M.E., Holland P.V., Pineda A.A. et al. Growth of bacteria in inoculated platelets: implication for bacteria detection and the extension of platelet storage. *Transfusion*. 2000; 40 (11): 1308–12. DOI:10.1046/j.1537-2995.2000.40111308.x.
19. Dreier J., Stormer M., Pichl L., Schottstedt V. et al. Sterility screening of platelet concentrates: questioning the optimal test strategy. *Vox Sang*. 2008; 95: 181–8. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2008.01087.x.
20. Staley E., Grossman B. Blood safety in the United States: prevention, detection, and pathogen reduction. *Clin Microbiol Newsletter*. 2019; 41(17): 149–57. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2019.08.002.
21. Vollmer T., Hinse D., Kleesiek K., Dreier J. The Pan Genera Detection immunoassay: a novel point-of-issue method for detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *J. Clin. Microbiol*. 2010; 48(10): 3475–81. DOI: 10.1128/JCM.00542-10.
22. Ramirez-Arcos S., McDonald C., Deol P. et al. Bacterial safety of blood components – a congress review of the ISBT transfusion-transmitted infectious diseases working party, bacterial subgroup. *ISBT Science Series*. 2019; 0: 1–9. DOI: 10.1111/voxs.12483.
8. Stormer M., Wood E.M., Gathof B. Microbial safety of cellular therapeutics – lessons from over ten years' experience in microbial safety of platelet concentrates. *ISBT Science Series*. 2019; 14: 37–44. DOI 10.1111/voxs.12452.
9. Kacker S., Bloch E.M., Ness P.M. et al. Financial impact of alternative approaches to reduce bacterial contamination of platelet transfusions. *Transfusion*. 2019; 59: 1291–9. DOI: 10.1111/trf.15139.
10. Bloch E.M., Marshall C.E., Boyd J.S. et al. Implementation of secondary bacterial culture testing of platelets to mitigate residual risk of septic transfusion reactions. *Transfusion*. 2018; 58(7): 1574–7. DOI: 10.1111/trf.14618.
11. Levy J.H., Neal M.D., Herman J.H. Bacterial contamination of platelets for transfusion: strategies for prevention. *Crit Care*. 2018; 22: 271. DOI: 10.1186/s13054-018-2212-9.
12. Sachais B.S., Paradiso S., Strauss D., Shaz B.H. Implication of US Food and Drug Administration draft guidance for mitigating septic reactions from platelet transfusions. *Blood Adv*. 2017; 1(15): 1142–7. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017008334.
13. FDA-CBER. Bacterial risk control strategies for blood collection establishments and transfusion services to enhance the safety and availability of platelets for transfusion. December 2018 [cited 2019 January 4]. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Blood/UCM627407.pdf>.
14. Zimrin A.B., Hess J.R. Current issues related to the transfusion of stored red blood cells. *Vox Sang*. 2009; 96: 93–103. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2008.01117.x.
15. Erony S.M., Marshall C.E., Gehrie E.A. et al. The epidemiology of bacterial culture-positive and septic transfusion reactions at a large tertiary academic center: 2009 to 2016. *Transfusion*. 2018; 58: 1933–9. DOI: 10.1111/trf.14789.
16. Viatkina O., Potapnev M. Analysis of content of aerosol particles and microbiological purity of air in the working areas of blood transfusion institutions. *Hematologiya. Transfusiologiya. Vostochnaya Evropa*. 2018; 4(4): 497–505 (In Russian).
17. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood component. Recommendation No.R (95) 15. 19th Edition. Strasbourg. 2017.
18. Brecher M.E., Holland P.V., Pineda A.A. et al. Growth of bacteria in inoculated platelets: implication for bacteria detection and the extension of platelet storage. *Transfusion*. 2000; 40 (11): 1308–12. DOI:10.1046/j.1537-2995.2000.40111308.x.
19. Dreier J., Stormer M., Pichl L., Schottstedt V. et al. Sterility screening of platelet concentrates: questioning the optimal test strategy. *Vox Sang*. 2008; 95: 181–8. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2008.01087.x.
20. Staley E., Grossman B. Blood safety in the United States: prevention, detection, and pathogen reduction. *Clin Microbiol Newsletter*. 2019; 41(17): 149–57. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2019.08.002.
21. Vollmer T., Hinse D., Kleesiek K., Dreier J. The Pan Genera Detection immunoassay: a novel point-of-issue method for detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *J Clin Microbiol*. 2010; 48(10): 3475–81. DOI: 10.1128/JCM.00542-10.
22. Ramirez-Arcos S., McDonald C., Deol P. et al. Bacterial safety of blood components – a congress review of the ISBT transfusion-transmitted infectious diseases working party, bacterial subgroup. *ISBT Science Series*. 2019; 0: 1–9. DOI: 10.1111/voxs.12483.

Информация об авторах

Вяткина Ольга Ивановна, врач-бактериолог, заведующая лабораторией бактериологического контроля отдела управления качеством и внутреннего аудита ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» Министерства здравоохранения Республики Беларусь,
e-mail: baklab@blood.by
ORCID <https://orcid.org/0000-0002-9802-155X>

Потапнев Михаил Петрович*, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом клеточных биотехнологий ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» Министерства здравоохранения Республики Беларусь,
e-mail: mpotapnev@yandex.by;
220053, Беларусь, Минск, Долгиновский тракт, 160
ORCID <https://orcid.org/0000-0001-7705-9383>

Красько Ольга Владимировна, ведущий научный сотрудник лаборатории биоинформатики, ГНУ «Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси»,
e-mail: krasko@newman.bas-net.by
ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4150-282X>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 20.08.2019

Принята к печати: 23.12.2019

Information about the authors

Olga I. Viatkina, Bacteriologist, Head the Laboratory of Bacteriological Control, Department the Quality Management and Internal Audit, Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies,
e-mail: baklab@blood.by
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9802-155X>

Michael P. Potapnev*, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head the Department of Cellular BioTechnologies, Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies,
e-mail: mpotapnev@yandex.by;
220053, Belarus, Minsk, Dolginovsky tract, 160
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7705-9383>

Olga V. Krasko, Leading Researcher, Laboratory of Bioinformatics, United Institute for Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus,
e-mail: krasko@newman.bas-net.by
ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4150-282X>

* Corresponding author

Received 20 Aug 2019

Accepted 23 Dec 2019

ЧАСТОТА СОЧЕТАНИЯ И КИНЕТИКА УРОВНЯ ТРАНСКРИПТА *BCR-ABL1* И АЛЛЕЛЬНОЙ НАГРУЗКИ МУТАЦИЙ *JAK2^{V617F+}* И *CALR* ТИП-1, -2 У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ

Абдуллаев А. О.^{*}, Степанова Е. А., Макарик Т. В., Никулина Е. Е., Треглазова С. А., Горячева С. Р., Шухов О. А., Быкова А. Н., Трацевская Ж. В., Меликян А. Л., Ковригина А. М., Туркина А. Г., Судариков А. Б.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Патогенез миелопролиферативных новообразований ассоциирован с химерным геном *BCR-ABL1* или одной из «драйверных мутаций» генов *JAK2*, *MPL* и *CALR* (*Calreticulin*). Однако в классификации Всемирной организации здравоохранения не указаны миелоидные новообразования с более чем одной «драйверной» генетической аномалией.

Цель — поиск мутаций в генах *JAK2*, *MPL* и *CALR* у больных *BCR-ABL1*-позитивным хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ), а также оценка кинетики уровня найденных мутаций при терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК).

Материалы и методы. В исследование включены препараты мРНК и ДНК клеток крови и костного мозга 567 больных ХМЛ, проходивших периодический мониторинг уровня транскрипта *BCR-ABL1* с 2012 по 2019 гг. Уровень транскрипта *BCR-ABL1* был определен посредством высокочувствительной количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Мутации *JAK2^{V617F}* и *MPL^{W515L/K}* были выявлены с использованием количественной аллель-специфической полимеразной цепной реакции в реальном времени. Мутации гена *CALR* были исследованы фрагментным анализом с последующим секвенированием по Сэнгеру.

Результаты. Сочетание мутаций генов *BCR-ABL1*, *JAK2* и *CALR* среди больных ХМЛ, получавших препараты ИТК, составила 1,23 % (7/567). Из них в 0,88 % (5/567) случаев было выявлено сочетание *BCR-ABL1* с *JAK2^{V617F}* и в 0,35 % (2/567) случаев — сочетание *BCR-ABL1* с мутациями гена *CALR*. При терапии препаратами ИТК в 5 из 7 случаев уровень *BCR-ABL1* достиг глубокого молекулярного ответа (МО). У 4 из этих больных была прекращена терапия, и у них по настоящее время сохраняется молекулярная ремиссия. В оставшихся 2 случаях не удалось достичь большого МО, несмотря на применение препаратов ИТК второго поколения.

Заключение. Сочетание химерного гена *BCR-ABL1* с мутациями генов *Jak2* или *CALR* является редким событием и составило 0,88 и 0,35 % случаев, соответственно. Сочетание *BCR-ABL1* с *Jak2^{V617F}* и мутациями гена *CALR* не всегда препятствует достижению большого МО.

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз, *BCR-ABL1*, мутация *JAK2V617F*, *CALR*

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Абдуллаев А.О., Степанова Е.А., Макарик Т.В., Никулина Е.Е., Треглазова С.А., Горячева С.Р., Шухов О.А., Быкова А.Н., Трацевская Ж.В., Меликян А.Л., Ковригина А.М., Туркина А.Г., Судариков А.Б. Частота сочетания и кинетика уровня транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки мутаций *JAK2^{V617F+}* и *CALR* тип-1, -2 у больных хроническим миелолейкозом. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(3): 263–280. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-263-280>

FREQUENCY OF COEXISTENCE AND KINETICS OF THE *BCR-ABL1* TRANSCRIPT LEVEL AND ALLELE BURDEN OF *JAK2*^{V617F} AND *CALR* TYPE 1, 2 GENE MUTATIONS IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Abdullaev A.O., Stepanova E.A., Makarik T.V., Nikulina E.Y., Treglazova S.A., Goryacheva S.R., Shukhov O.A., Bykova A.V., Tratsevskaya Z.V., Melikyan A.L., Kovrigina A.M., Turkina A.G., Sudarikov A.B.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The pathogenesis of myeloproliferative neoplasms is associated with the chimeric gene *BCR-ABL1* or with one of the driver mutations in the genes *JAK2*, *MPL* and *CALR* (*Calreticulin*). However, the classification of the World Health Organization lists no myeloid neoplasms with more than one driver genetic abnormality.

Aim. To search for mutations in the genes *JAK2*, *MPL* and *CALR* in patients with *BCR-ABL1*-positive chronic myeloid leukemia (CML), as well as to evaluate the kinetics of the discovered mutations during tyrosine kinase inhibitor (TKI) therapy.

Materials and methods. mRNA and DNA samples isolated from blood and bone marrow cells of 567 CML patients, who underwent periodic monitoring of the *BCR-ABL1* transcript level over the 2012–2019 period were included in the study. The *BCR-ABL1* transcript level was determined using a highly sensitive quantitative real-time polymerase chain reaction. The mutations *JAK2*^{V617F} and *MPL*^{W515L/K} were detected using real-time quantitative allele-specific polymerase chain reaction. Mutations in the *CALR* gene were investigated using fragment analysis followed by Sanger sequencing.

Results. The combination of the *BCR-ABL1*, *JAK2* and *CALR* gene mutations among CML patients receiving TKIs was 1.23% (7/567). Out of these, the combination of *BCR-ABL1* with *JAK2*^{V617F} and the combination of *BCR-ABL1* with *CALR* gene mutations were detected in 0.88% (5/567) and 0.35% (2/567) of cases, respectively. During TKI therapy, in 5 out of 7 patients, the level of *BCR-ABL1* reached major molecular response (MR). In 4 of these patients, the therapy was discontinued. These patients are currently in molecular remission. In the remaining 2 patients, major MR was not achieved, despite the use of second-generation TKI preparations.

Conclusions. The combination of the *BCR-ABL1* chimeric gene with gene mutations *Jak2* or *CALR* was a rare event and amounted to 0.88 and 0.35% of cases, respectively. The combination of *BCR-ABL1* with *Jak2*^{V617F} and *CALR* mutations does not always impede the achievement of major MR.

Keywords: chronic myeloid leukemia, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis, *BCR-ABL1*, *JAK2*^{V617F} mutation, *CALR*

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Abdullaev A.O., Stepanova E.A., Makarik T.V., Nikulina E.Y., Treglazova S.A., Goryacheva S.R., Shukhov O.A., Bykova A.V., Tratsevskaya Z.V., Melikyan A.L., Kovrigina A.M., Turkina A.G., Sudarikov A.B. Frequency of coexistence and kinetics of the *BCR-ABL1* transcript level and allele burden of *JAK2*^{V617F} and *CALR* Type 1, 2 gene mutations in patients with chronic myeloid leukemia. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2020; 65(3): 263–280 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-263-280>

Введение

Согласно классификации ВОЗ опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей, химерный ген *BCR-ABL1* является молекулярным маркером хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), а мутации генов *JAK2*, *CALR* и *MPL* — молекулярными маркерами, характерными для истинной полицитемии (ИП), эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ) и первичного миелофиброза (ПМФ) [1]. В большинстве случаев у больных миелопролиферативными новообразованиями (МПН) лейкоэмический клон несет в себе одну из драйверных мутаций. Тем не менее, по данным литературы, сочетание двух драйверных мутаций при МПН не является редким событием. Химерный ген *BCR-ABL1* может вторично выявляться у части больных с *JAK2*^{V617F+} ИП [2–7], ЭТ [8–13] и ПМФ [14, 15] или, наоборот, после успешной элиминации *BCR-ABL1*⁺ клона у больных ХМЛ может вторично выявляться *JAK2*^{V617F+} и *CALR*⁺ ИП, ЭТ [16] и ПМФ. Частота сочетания химерного гена *BCR-ABL1* и мутации *JAK2*^{V617F} в различных популяциях больных ХМЛ сильно варьирует. Если J. Jelinek и соавт. [17] из США при исследовании 99 больных ХМЛ не нашли ни одного случая сочетания транскрипта *BCR-ABL1* и *JAK2*^{V617F}, то другие авторы из США, увеличив объем выборки до 1570 больных ХМЛ, выявили сочетание клонов у 0,4 % (6/1570) больных [18]. Частота сочетания транскрипта *BCR-ABL1* и *JAK2*^{V617F} у больных ХМЛ в исследованиях немецких авторов составила 0,2 % (23/1487) [19], а у польских — 0,7 % [20]. По данным мексиканского исследования, проведенного на небольшой выборке из 142 больных различными видами МПН, частота сочетания двух клонов составила 12,7 % [21]. Наибольшая частота сочетаний транскрипта *BCR-ABL1* и *JAK2*^{V617F} отмечена авторами из Пакистана — 26,7 % [22]. Открытые в 2013 г. мутации 9-го экзона гена *CALR* выявляются в 70–84 % случаев *Jak2* и *MPL*-негативных ЭТ и ПМФ, в 8 % случаев миелодиспластического синдрома и не выявляются при ХМЛ [23–25]. Тем не менее за 2014–2019 гг. описаны 12 клинических наблюдений сочетания химерного гена *BCR-ABL1* и мутации 9-го экзона гена *CALR* [26–37]. Частота такого сочетания описана в польской популяции больных ХМЛ и составляет 0,17 % [17].

Целью данного исследования явилось определение частоты сочетаний и кинетики уровня транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки мутаций генов *JAK2*, *MPL* и *CALR* у больных ХМЛ при терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК).

Материалы и методы

В исследование было включено 567 больных ХМЛ, получавших терапию препаратами ИТК, которым проводили мониторинг уровня химерного транскрипта *BCR-ABL1* в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с 2012 по 2019 гг. Выделение

мРНК и ДНК осуществлялось набором реагентов компании «Интерлабсервис» (Россия) согласно инструкции производителя. Количественная оценка уровня транскриптов (Mbcg b3a2 и b2a2) *BCR-ABL1* была проведена с использованием амплификатора Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия) и набора реагентов «АмплиСенс® Лейкоз Квант M-bcr-FRT» («Интерлабсервис», Россия). Результаты анализов рассчитаны по международной шкале с учетом фактора конверсии. Поиск мутаций *JAK2*^{V617F} и *MPL*^{W515L/K} был осуществлен с использованием количественной аллель-специфической (АС) полимеразной цепной реакции в реальном времени. Мутации гена *CALR* исследованы фрагментным анализом с последующим секвенированием по Сэнгеру. В исследованиях были использованы наборы реагентов компании «Синтол» (Россия).

Результаты

В результате исследования образцов мРНК и ДНК клеток крови 567 больных с *BCR-ABL1*⁺ ХМЛ мутация *JAK2*^{V617F} была выявлена у 5 больных, а мутации 9-го экзона гена *CALR* — у 2 больных. Сочетание *BCR-ABL1* с мутацией *MPL*^{W515L/K} не было выявлено ни у одного больного ХМЛ (табл. 1).

Клиническое наблюдение 1. Больной Ш. Д.А., 59 лет. У больного в октябре 2012 г. в клиническом анализе крови были выявлены лейкоцитоз ($144 \times 10^9/\text{л}$) и тромбоцитоз ($904 \times 10^9/\text{л}$), в миелограмме — бластные клетки 4 %, расширение гранулоцитарного ростка, базофилы 10,5 %, эозинофилы 8 %. Отмечены гепатомегалия и спленомегалия (+3 и +15 см из-под края реберной дуги, соответственно). При гистологическом исследовании трепанобиоптата костного мозга обнаружена морфологическая картина ХМЛ и ПМФ (рис. 1 А и В). Молекулярно-генетическое исследование выявило уровень транскрипта *BCR-ABL1* — 80 % и аллельную нагрузку мутации *JAK2*^{V617F} — 73 %. Установлен клинический диагноз «ХМЛ, хроническая фаза, промежуточная группа риска по Sokal», и начата терапия иматинибом в дозе 400 мг/сут. Через 8 месяцев после начала терапии иматинибом уровень транскрипта *BCR-ABL1* снизился в 1000 раз (с 80 до 0,08 %), а аллельная нагрузка мутации *JAK2*^{V617F} снизилась в 3,5 раза (с 73 до 21 %). При повторном исследовании в ноябре 2013 г. уровень транскрипта *BCR-ABL1* составил 0,014 %, а мутация *JAK2*^{V617F} снизилась до 5 %. Учитывая сохраняющиеся тромбоцитоз и спленомегалию на фоне глубокого молекулярного ответа (МО) по уровню транскрипта *BCR-ABL1*, а также биклональный характер миелопролиферативного заболевания, с марта 2015 г. к терапии добавлен интерферон альфа в дозе 3 млн МЕ через день. С июня 2018 г. больному прекращена терапия иматинибом и продолжена

Таблица 1. Общие сведения о больных ХМЛ с мутациями JAK2^{V617F} и CALR тип-1, -2
Table 1. General information about CML patients with JAK2^{V617F} and CALR type-1, 2 mutations

| Случай Case | Пол Sex | Возраст (лет) Age (years) | Последовательность диагнозов Order of diagnoses | Время (мес) Time (months)* | Уровень транс- крипта Vcr-Abl1 Vcr-Abl1 transcript level(IS) | Тип мутаций Type of mutation | Аллельная нагрузка мутаций Allele burden of mutations (%) | Причины поиска других мутаций Reasons to search for other mutations | Препараты ИТК (мг/сут) TKI drugs (mg/day) | БМО MMR |
|----------------|------------|------------------------------------|---|-------------------------------------|---|---------------------------------------|---|--|--|------------|
| 1 | М M | 59 | ХМЛ + ПМФ CML + PMF | 0 | 80 % | JAK2 ^{V617F} | 73 | В трепанобиоптате костного мозга картина ХМЛ и ПМФ A picture characteristic of CML and PMF in the bone marrow trephine biopsy specimen | Иматиниб 400 Imatinib 400 | Да Yes |
| 2 | Ж F | 61 | ИП→ХМЛ PV→CML | 60 | 49 % | JAK2 ^{V617F} | 95 | Нарастающий лейкоцитоз в крови до 30,5 × 10 ⁹ /л Increasing leukocytosis in the blood up to 30.5 × 10 ⁹ /L | Иматиниб 400 Нилотиниб 800 Imatinib 400 Nilotinib 800 | Нет No |
| 3 | Ж F | 51 | ХМЛ→ЭТ CML→ET | 158 | 3,7 % | JAK2 ^{V617F} | 9 | Отсутствие ПЦО на 4 разных препаратах ИТК No CCyR to 4 different TKI drugs | Иматиниб 600 Дазатиниб 140 Нилотиниб 800 Imatinib 600 Dasatinib 140 Nilotinib 800 | Нет No |
| 4 | Ж F | 60 | ПМФ→ХМЛ PMF→CML | 58 | 0 % | JAK2 ^{V617F} | 59 | Нарастающий лейкоцитоз в крови до 37 × 10 ⁹ /л и спленомегалия (+5 см) Increasing leukocytosis in the blood up to 37 × 10 ⁹ /L and splenomegaly (+5 cm) | Иматиниб 600 Нилотиниб 400 Imatinib 600 Nilotinib 400 | Да Yes |
| 5 | М M | 55 | ИП→ХМЛ PV→CML | 3 | 1,8 % | JAK2 ^{V617F} | 70 | Нарастающий лейкоцитоз в крови до 50 × 10 ⁹ /л Increasing leukocytosis in the blood up to 50 × 10 ⁹ /L | Иматиниб 600 Иматиниб 600 Imatinib 600 | Да Yes |
| 6 | М M | 66 | ХМЛ→ПМФ CML→PMF | 4 | 78 % | CALR-1 | 46 | Нарастающий тромбоцитоз в крови до 1279 × 10 ⁹ /л Increasing thrombocytosis in the blood up to 1279 × 10 ⁹ /L | Иматиниб 400 Иматиниб 400 Imatinib 400 | Да Yes |
| 7 | М M | 66 | ХМЛ→ЭТ CML→ET | 204 | 0 % | CALR-2 | 48 | Нарастающий тромбоцитоз в крови до 950–1000 × 10 ⁹ /л при БМО Increasing thrombocytosis in the blood up to 950–1000 × 10 ⁹ /L in MMR | Иматиниб 400 Иматиниб 400 Imatinib 400 | Да Yes |

Примечание. ХМЛ — хронический миелолейкоз, ПМФ — первичный миелофиброз, ЭТ — эссенциальная тромбоцитемия, IS — международная шкала, ПЦО — полный цитогенетический ответ, БМО — большой молекулярный ответ; * — временной интервал (мес) между выявлением двух мутаций.

Note. CML — chronic myeloid leukemia, PMF — primary myelofibrosis, PV — Polycythemia Vera, TKI — tyrosine kinase inhibitor; ET — essential thrombocythemia, IS — international scale, CCyR — complete cytogenetic response, MMR — major molecular response; * — time interval (months) between detection of two mutations.

монотерапия интерфероном альфа в дозе 3 млн МЕ через день. К августу 2019 г. уровень транскрипта *BCR-ABL1* достиг 0,061 %, т.е. глубокой молекулярной ремиссии, а аллельная нагрузка *JAK2^{V617F}* стабилизировалась в пределах 28–34 % (рис. 1 С).

Клиническое наблюдение 2. Больная Б. Е.Н., 61 год. В 2007 г. ей был установлен диагноз ИП на основании эритроцитоза ($7,42 \times 10^{12}/л$), лейкоцитоза ($14,9 \times 10^9/л$), спленомегалии и морфологического исследования трепанобиоптата костного мозга (рис. 2 А и В). При молекулярно-генетическом анализе обнаружена мутация *JAK2^{V617F}*. Больной была начата терапия гидроксикарбамидом в дозе 1 г 2 раза в день. Тем не менее через 5

лет от начала цитостатической терапии, в марте 2012 г., в крови отмечено нарастание лейкоцитоза до $30,5 \times 10^9/л$. В трепанобиоптате костного мозга отмечалось расширение гранулоцитарного роста за счет промежуточных форм, клеток с незрелой морфологией, более характерной для ХМЛ (рис. 2 А и В). При молекулярно-генетическом исследовании обнаружены транскрипт *BCR-ABL1* в количестве 49,53 % и мутация *JAK2^{V617F}* с аллельной нагрузкой 95 %. Клинический диагноз ИП был дополнен ХМЛ, и начата терапия иматинибом в дозе 400 мг/сут. Спустя два с половиной месяца терапии из-за токсического эффекта иматиниб был заменен на нилотиниб в дозе 800 мг/сут. К марту 2014 г. уровень

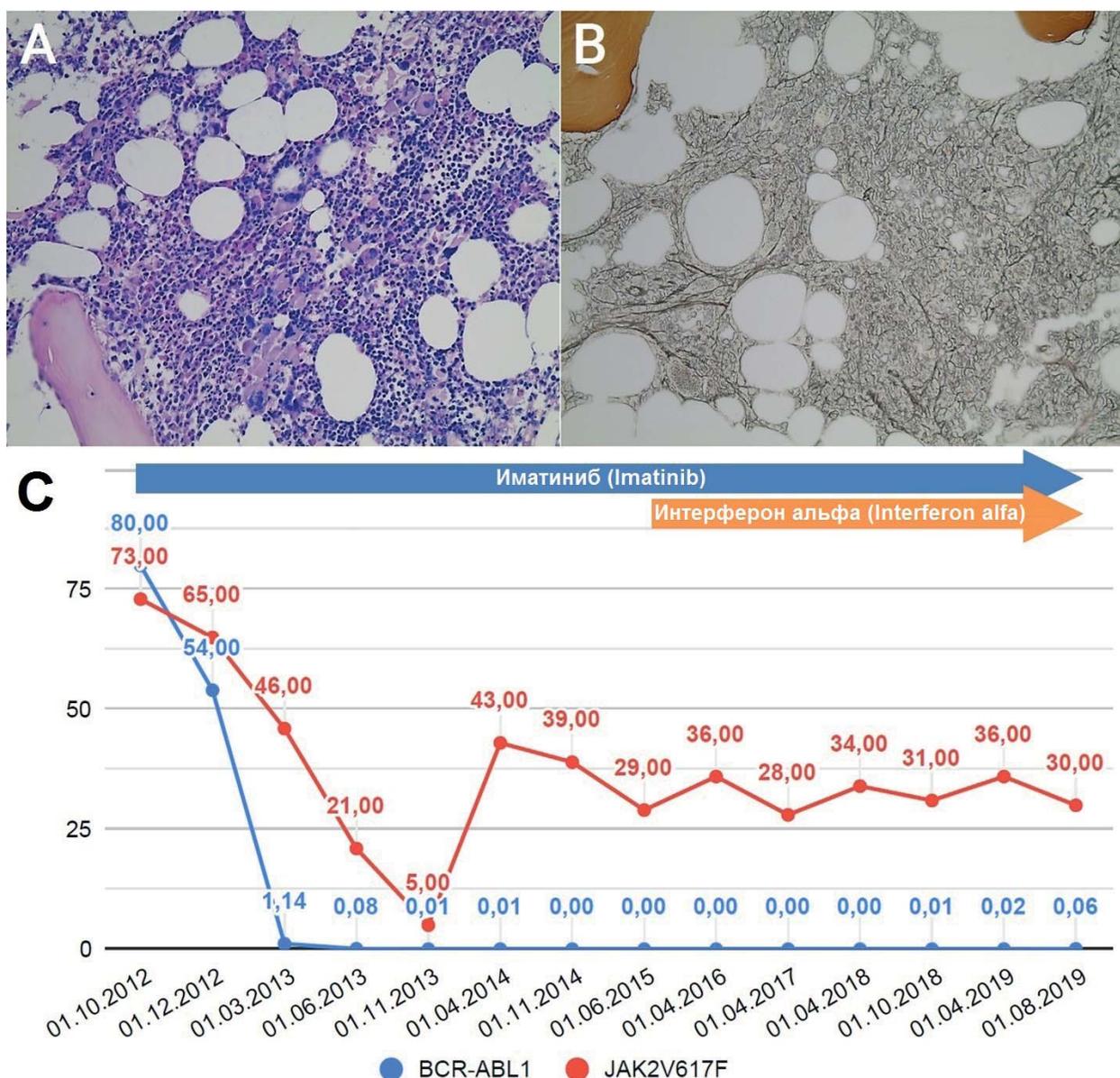


Рисунок 1. А — гиперклеточный костный мозг с трехростковой гиперплазией: эритроидный росток с выраженными признаками омоложения, в виде «рассыпающихся» кластеров эритрокариоцитов, присутствовали мегалобластоидные формы; гранулоцитарный росток — на всех этапах дифференцировки. Мегакариоциты полиморфны по размерам и морфологии, располагались разрозненно и в виде единичных рыхлых кластеров. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 200$. В — степень ретикулинового фиброза стромы MF-0 с участками MF-1 менее 30 %. Окраска по Гомори. Ув. $\times 200$. С — кинетика уровня транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки *JAK2^{V617F}*

Figure 1. А — hypercellular bone marrow with panmyelosis. Loose clusters of erythrocytes with an increased count of erythroid precursors with the presence of megaloblastoid forms. For granulocytic lineage, every stage of differentiation is detectable. Megakaryocytes with notable pleomorphism in size and nuclear morphology tending to form occasional loose clusters. Stain: H&E. Magnification: $\times 200$. В — stromal reticulin fibrosis grade MF-0, with less than 30 %. Gomori stain. Magnification: $\times 200$. С — kinetics of the transcript level *BCR-ABL1* and allelic load *JAK2^{V617F}*

транскрипта *BCR-ABL1* снизился до 0,29 %, а аллельная нагрузка *JAK2^{V617F}* увеличилась до 100 % (рис. 2 С).

Клиническое наблюдение 3. Больная Х. Е.С., 51 год. Диагноз ХМЛ у нее был установлен в июне 2001 г. на основании лейкоцитоза ($44 \times 10^9/\text{л}$) и обнаружения при стандартном цитогенетическом исследовании (СЦИ) транслокации $t(9;22)(q34;q11)$ в 100 % метафазных ядер клеток крови. Больной была начата терапия интерфероном альфа в дозе 10 млн МЕ/сут в сочетании с малыми дозами цитарабина. С июня 2003 г. назначен иматиниб в дозе 400 мг/сут, затем в связи с отсутствием цитогенетического ответа — 600 мг/сут. В связи с цитогенетической резистентностью через 4 года лече-

ния иматинибом больная была переведена на терапию ИТК 2-го поколения дазатинибом. Однако за 3 года терапии дазатинибом в максимальной дозе 140 мг/сут удалось получить лишь кратковременный цитогенетический ответ (Ph+ в 66 % метафазных ядер), в связи с чем вновь произведена смена ИТК, и с марта 2010 г. начата терапия нилотинибом в дозе 800 мг/сут. Однако за 4 года терапии нилотинибом не удалось получить полный гематологический ответ, в крови сохранялся умеренный тромбоцитоз ($600 \times 10^9/\text{л}$) и эритроцитоз ($5,4 \times 10^{12}/\text{л}$). Удалось получить только частичный цитогенетический ответ (Ph+ в 23 % метафаз) и снижение уровня транскрипта *BCR-ABL* до 3,36 %. Эти обстоя-

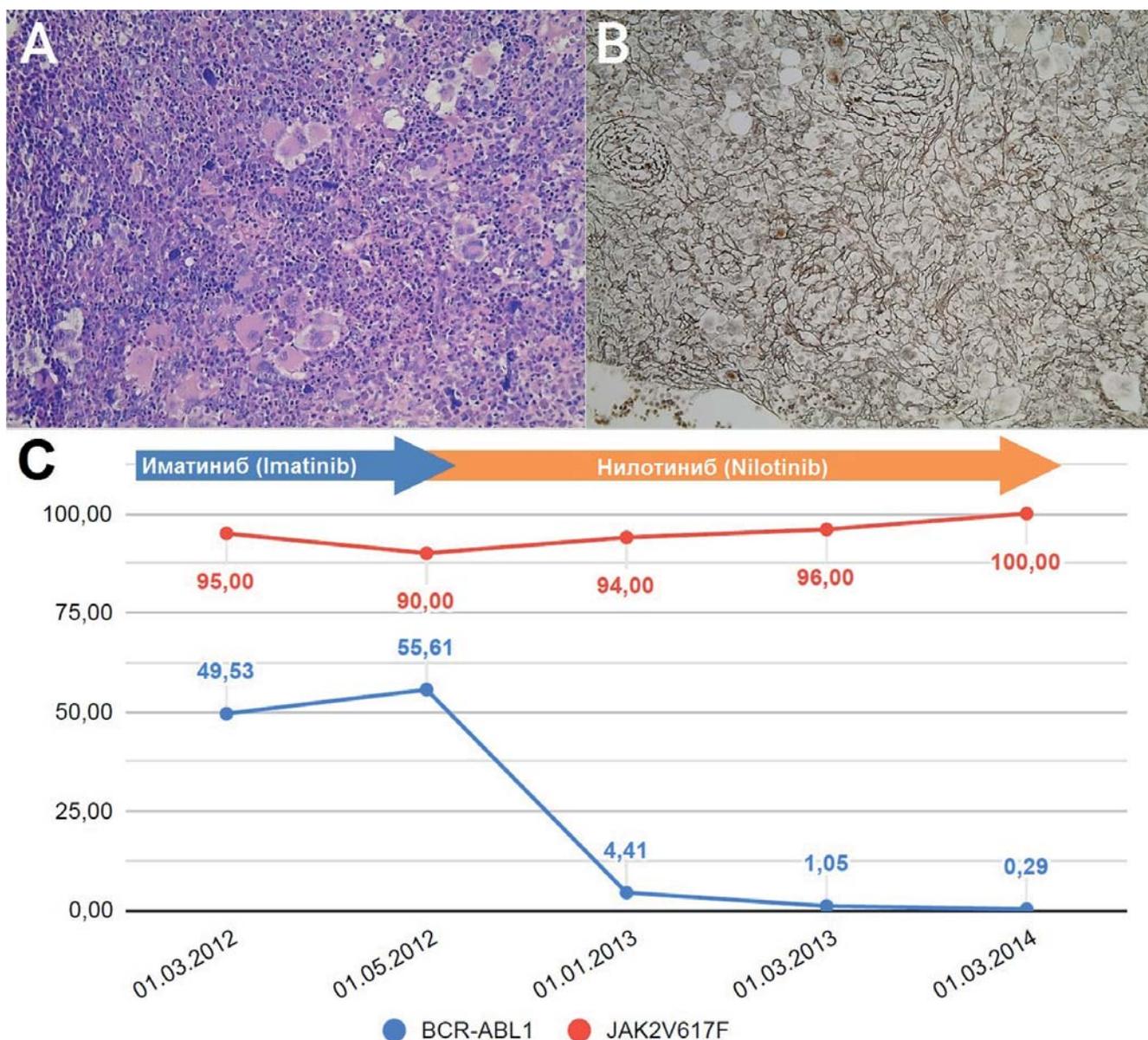


Рисунок 2. А — гиперклеточный костный мозг с трехростковой гиперплазией: эритроидный росток расширен, с выраженными признаками омоложения. Гранулоцитарный росток умеренно расширен, на всех этапах дифференцировки. Мегакариоциты полиморфны по размерам и морфологии, располагаются разрозненно и в виде единичных рыхлых кластеров межтрабекулярно. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 200$. В — степень ретикулинового фиброза стромы MF-1. Окраска по Гомори. Ув. $\times 200$. С — кинетика уровней транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки *JAK2^{V617F}* у больной Б. Е.Н.

Figure 2. А — hypercellular bone marrow with panmyelosis. Erythropoiesis is normoblastic with multiple erythroid precursors. Granulopoiesis is moderately expanded, with cells being at various differentiation stages. Numerous megakaryocytes with a significant difference in size and morphology tending to form occasional intertrabecular loose clusters. Stain: H&E. Magnification: $\times 200$. В — stromal reticulin fibrosis grade MF-1. Stain: Gomori silver. Magnification: $\times 200$. С — kinetics of the *BCR-ABL1* transcript level and allele burden of *JAK2^{V617F}*

тельства послужили причиной поиска других драйверных мутаций МПН, и в октябре 2014 г. в клетках крови больной была обнаружена мутация $JAK2^{V617F}$ с аллельной нагрузкой 9,1 %. Ретроспективное исследование аллельной нагрузки мутации $JAK2^{V617F}$ показало, что впервые мутация $JAK2^{V617F}$ с уровнем 1 % появилась в январе 2012 г. и имела тенденцию к неуклонному росту аллельной нагрузки. Гистологическое исследование трепанобиоптата костного мозга выявило картину, характерную для ЭТ (рис. 3 А и В). Таким образом, у больной с $BCR-ABL1^+$ ХМЛ было констатировано наличие второго МПН — ЭТ с мутацией $JAK2^{V617F}$. Учитывая плохую переносимость терапии интерфероном в прошлом, было рекомендовано продолжить терапию нилотинибом (800 мг/сут) в сочетании с гидроксикарбамидом (0,5–1 г/сут). В результате проводимого

лечения достигнута гематологическая ремиссия, однако за 16 лет терапии препаратами ИТК ни разу не удалось достичь большого МО (БМО). К сентябрю 2019 г. уровень транскрипта $BCR-ABL1$ составил 3,02 %, а аллельная нагрузка мутации $JAK2^{V617F}$ осталась без изменений и составила 20 % (рис. 3 С).

Клиническое наблюдение 4. Больная К. Н.Н., 60 лет. В 2002 г. впервые у больной была выявлена спленомегалия (+1 см из-под края реберной дуги), повышенная кровоточивость из мелких ран, чувство тяжести и боль в левом подреберье. Показатели гемограммы были удовлетворительными (гемоглобин — 124 г/л, лейкоциты — $2,9 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты — $170 \times 10^9/\text{л}$), и поэтому больной было назначено симптоматическое лечение.

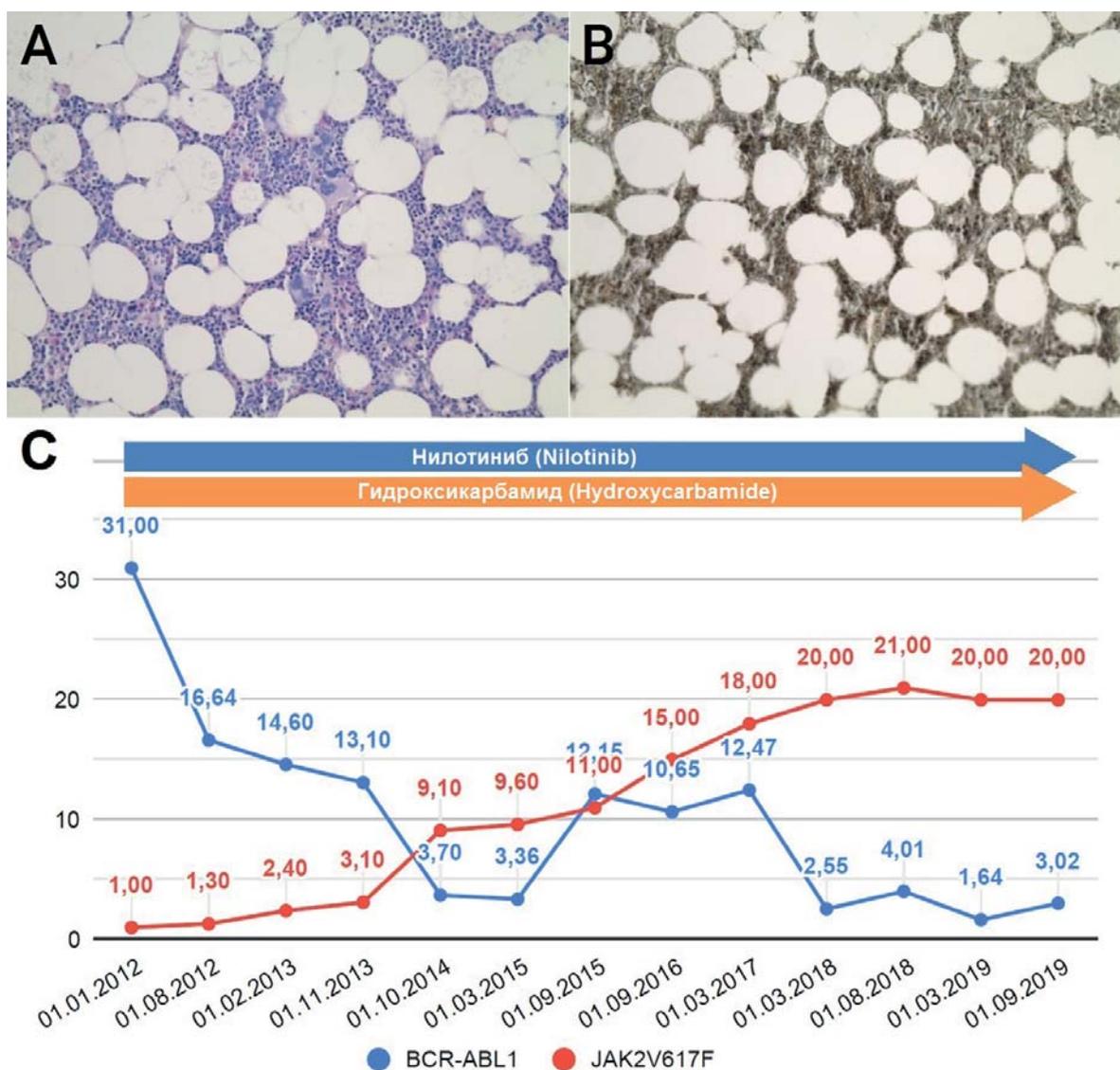


Рисунок 3. А — нормоклеточный костный мозг: гранулоцитарный росток в умеренном количестве, с преобладанием зрелых форм. Эритроидный росток в достаточном количестве, в виде мелких скоплений эритрокариоцитов нормобластического ряда. Мегакариоциты — в увеличенном количестве, обычных и крупных размеров, с атипичной морфологией, гиперлобулярными нормохромными ядрами, располагаются разрозненно. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 200$. В — степень ретикулинового фиброза MF-0 на большем протяжении. Окраска по Гомори. Ув. $\times 200$. С — кинетика уровней транскрипта $BCR-ABL1$ и аллельной нагрузки $JAK2^{V617F}$ у больной Х. Е.С.

Figure 3. А — normocellular bone marrow. The granulocytes count lies within the normal range with the predominance of mature forms. Erythroid lineage is sufficient, erythrokaryocytes form small clusters. The megakaryocytes count is elevated; there are normal to large forms, with atypical morphology, hyperlobular normochromic nuclei. No clusters of megakaryocytes. Stain: H&E. Magnification: $\times 200$. В — stromal reticulin fibrosis grade MF-0. Stain: Gomori silver. Magnification: $\times 200$. С — kinetics of the $BCR-ABL1$ transcript level and allele burden of $JAK2^{V617F}$

Однако в июне 2004 г. отмечено нарастание лейкоцитоза до $70 \times 10^9/\text{л}$ и спленомегалии, а при гистологическом исследовании трепанобиоптата костного мозга обнаружены морфологические признаки, характерные для ПМФ. Последующие 3 года больная с кратковременным терапевтическим эффектом получала цитостатическую (гидроксикарибамид 1 г/сут) и иммуномодулирующую (интерферон альфа 3 млн МЕ/сут) терапию. Тем не менее в феврале 2007 г. отмечено нарастание лейкоцитоза до $37 \times 10^9/\text{л}$ и спленомегалии (+5 см из-под края реберной дуги), а при цитогенетическом исследовании обнаружена транслокация $t(9;22)(q34;q11)$. Больной установлен диагноз ХМЛ, и с апреля 2007 г.

начата терапия иматинибом в дозе 600 мг/сут. Спустя 3 месяца из-за аллергической реакции (крапивница) был отменен иматиниб, и с августа 2007 г. начата терапия нилотинибом в дозе 800 мг/сут. Через 6 месяцев был достигнут полный цитогенетический ответ (ПЦО), а через год — БМО. Однако, несмотря на достижение ПЦО и БМО, сохранялись выраженная спленомегалия, умеренная анемия и тромбоцитопения, единичные миелоциты и нормобласты в крови, постоянный умеренный внутриклеточный гемолиз. По данным повторного гистологического исследования трепанобиоптата костного мозга, выполненного в июне 2012 г., выявлены изменения, характерные для фиброзной стадии ПМФ

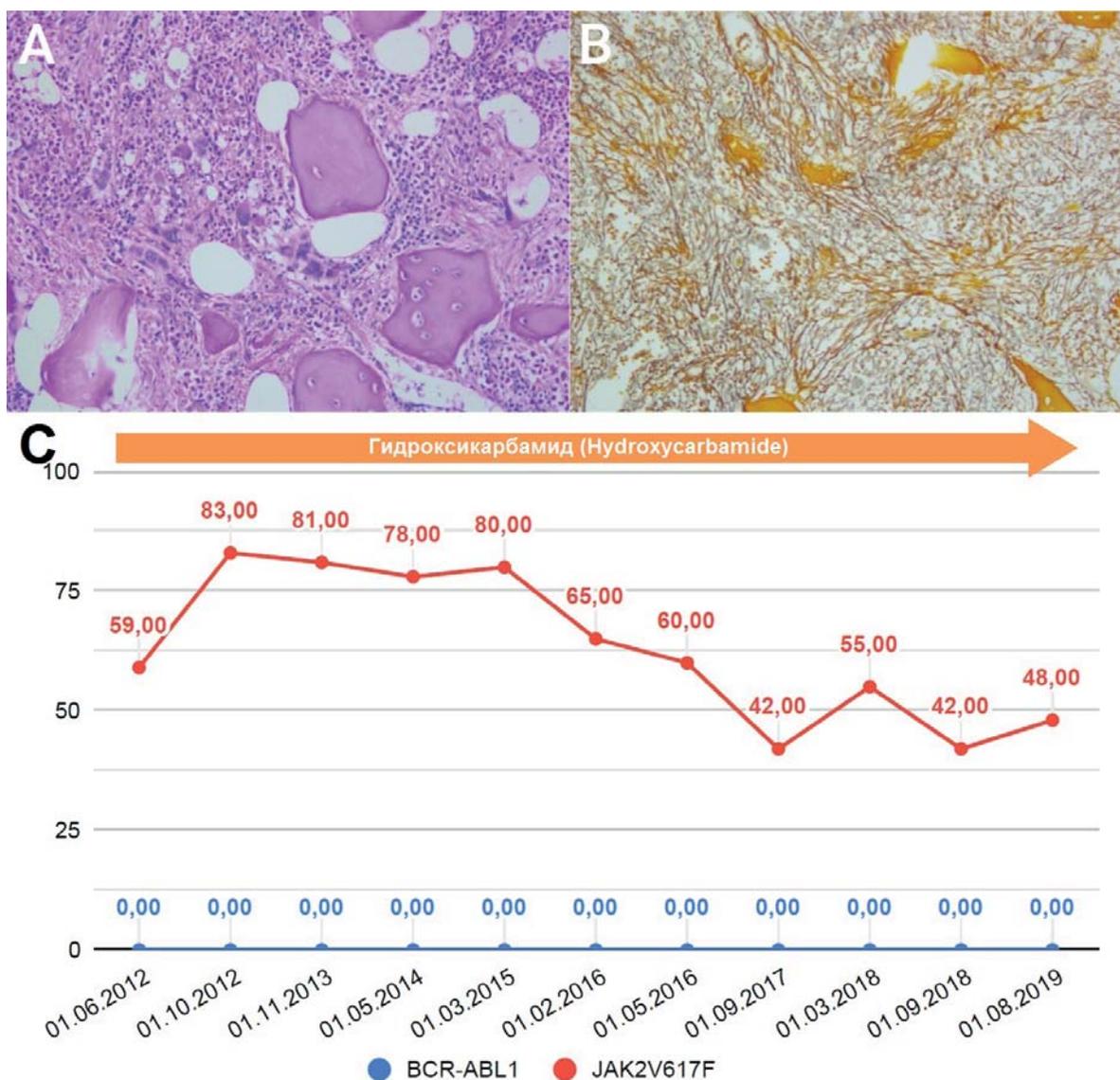


Рисунок 4. А — гиперклеточный костный мозг за счет расширения гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков; клеточные элементы расположены в виде «цугов». Гранулоцитарный росток представлен преимущественно зрелыми формами с очаговым увеличением эозинофильных гранулоцитов. Мегакариоциты полиморфны по размерам, с атипичной морфологией, расположены разрозненно и в виде рыхлых и плотных кластеров. Эритроидный росток — в умеренном количестве, представлен кластерами эритрокарицитов нормобластического ряда. Остеосклероз grade 2–3. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 200$. В — степень ретикулинового фиброза стромы MF-3. Окраска по Гомори. Ув. $\times 200$. С — кинетика уровней транскрипта BCR-ABL1 и аллельной нагрузки JAK2^{V617F} у больного К. Н.Н.

Figure 4. A — bone marrow is hypercellular due to the expansion of granulo- and megakaryopoiesis. Hematopoietic cells are arranged in cords due to dense stromal fibrosis. Granulocytes are predominantly represented by mature forms with a focal increase in eosinophilic granulocytes count. Megakaryocytes vary in size with atypical morphology, noticeably tending to form loose and dense clusters. Erythroid cell count lies within the normal range and the lineage is represented by normoblastic erythrokaryocytes clusters. Osteosclerosis grade 2–3. Stain: H&E. Magnification: $\times 200$. B — stromal reticulin fibrosis grade MF-3. Stain: Gomori silver. Magnification: $\times 200$. C — kinetics of the BCR-ABL1 transcript level and allele burden of JAK2^{V617F}

(рис. 4 А и В), а молекулярно-генетический анализ показал наличие мутации *JAK2^{V617F}* с аллельной нагрузкой 59 %. С учетом сохраняющегося стабильного глубокого МО в течение 4 лет было решено отменить нилотиниб и продолжить терапию только гидроксикарбамидом в дозе 0,5–1 г/сут. Однако в связи нарастанием спленомегалии, портальной гипертензии и явлений гиперспленизма (тромбоцитопения, анемия) в апреле 2013 г. была выполнена спленэктомия. В августе 2019 г. при молекулярно-генетическом анализе транскрипт *BCR-ABL1* не обнаружен, а аллельная нагрузка мутации *JAK2^{V617F}* составила 48 % (рис. 4 С).

Клиническое наблюдение 5. Больной Д. Л.А., 55 лет. Диагноз ИП установлен в феврале 2011 г. на основании гепатоспленомегалии (печень и селезенка выступали на 1 см из-под края реберной дуги), плеторического синдрома и изменений в анализе крови (гемоглобин — 201 г/л, эритроциты — $9,53 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты — $11,65 \times 10^9$ /л и тромбоциты — 476×10^9 /л, СОЭ — 0,5 мм/ч). Больному были рекомендованы эритроцитаферез и циторедуктивная терапия гидроксикарбамидом в дозе 1 г/сут. Однако, несмотря на проводимую терапию, через 3 месяца отмечено нарастание лейкоцитоза с $11,65 \times 10^9$ до 50×10^9 /л. При СЦИ в 22 % метафазных ядер обнаружена мутация t(9;22) (q34;q11), а молекулярно-генетический анализ выявил транскрипт *BCR-ABL1*. На основании результатов вышеуказанных исследований установлен клинический диагноз — ХМЛ, хроническая фаза, и начата терапия иматинибом в дозе 400 мг/сут. Спустя 6 месяцев после начала терапии иматинибом был достигнут ПЦО, но сохранялись выраженный плеторический синдром: в крови эритроцитоз ($7,2 \times 10^{12}$ /л), тромбоцитоз (701×10^9 /л) и лейкоцитоз ($11,47 \times 10^9$ /л) без сдвига лейкоцитарной формулы. В сентябре 2012 г. при гистологическом исследовании трепанобиоптата костного мозга обнаружена выраженная картина ИП (рис. 5 А и В), а молекулярно-генетический анализ показал наличие мутации *JAK2^{V617F}* с аллельной нагрузкой 70,6 %. Было принято решение увеличить дозу иматиниба с 400 до 600 мг/сут. К сентябрю 2013 г. был достигнут БМО, а аллельная нагрузка на мутацию *JAK2^{V617F}* снизилась до 56 %. Однако через 4 года после достижения стабильного БМО в мае 2017 г. из-за развития негематологической токсичности (задержка жидкости, нестабильное АД) иматиниб был заменен на интерферон альфа в дозе 3 млн МЕ через день.

Клиническое наблюдение 6. Больной К. Ю.А., 66 лет. Клинический диагноз ХМЛ, хроническая фаза был установлен ему в августе 2015 г. на основании лейкоцитоза ($17,2 \times 10^9$ /л), гепатоспленомегалии (печень и селезенка на 2 см выступали из-под реберной дуги) и наличия мутации t(9;22) (q34;q11) в 55 % метафазных ядрах клеток крови. При моле-

кулярно-генетическом анализе уровень химерного транскрипта *BCR-ABL1* составил 78,15 %. Больному была начата терапия иматинибом в дозе 400 мг/сут. За 4 месяца терапии иматинибом отмечено снижение количества лейкоцитов до $6,8 \times 10^9$ /л и уровня транскрипта *BCR-ABL1* до 2,79 %, что сопровождалось нарастанием тромбоцитоза с 334×10^9 до 1279×10^9 /л. При гистологическом исследовании трепанобиоптата костного мозга были выявлены морфологические признаки ПМФ (рис. 6 А и В), а молекулярно-генетическое исследование обнаружило мутацию *CALR* с.1099_1150del. p. L367fs*46. К терапии с иматинибом в дозе 400 мг/сут добавлен гидроксикарбамид 1 г/сут. По данным молекулярно-генетических исследований, с января 2017 г. сохраняется БМО, а уровень аллельной нагрузки мутации *CALR^{p.L367fs*46}* остается в пределах 40–50 % (рис. 6 С).

Клиническое наблюдение 7. Больной В. В.С., 66 лет. Диагноз ХМЛ установлен в октябре 2000 г., и до июня 2004 г. больной получал терапию препаратами интерферона альфа. С июля 2004 г. начато лечение иматинибом (400 мг/сут), и через год достигнут БМО. Несмотря на стабильно сохраняющийся БМО, в марте 2017 г. отмечен тромбоцитоз (более 1000×10^9 /л). Последующий молекулярно-генетический анализ обнаружил мутацию *CALR* с.1154_1155insTTGTC (p.K385fs*47) с аллельной нагрузкой 48 %, а гистологическое исследование трепанобиоптата костного мозга выявило морфологическую картину ЭТ. С учетом стабильно сохраняющегося глубокого МО иматиниб был заменен на интерферон альфа в дозе 3 млн МЕ × 3 раза в неделю, после чего количество тромбоцитов снизилось до нормальных значений. С 2006 г. уровень транскрипта *BCR-ABL1* не детектируется, а аллельная нагрузка мутации *CALR* с.1154_1155insTTGTC (p.K385fs*47) с момента обнаружения находится в диапазоне 41–48 % (рис. 7).

Обсуждение

По данным литературы, частота сочетания химерного гена *BCR-ABL1* и мутации *JAK2^{V617F}* у больных ХМЛ в различных популяциях широко варьирует: в США — 0,4 % [17, 18], Германии — 0,2 % [19], Польше — 0,7 % [20], Мексике — 12,7 % [21], Пакистане — 26,7 % [22]. Сочетания химерного гена *BCR-ABL1* и мутаций 9-го экзона *CALR* — относительно редкие явления, частота этих событий описана только для польской популяции больных ХМЛ и составляет 0,17 % [17]. В обследованной нами когорте больных ХМЛ частота сочетания химерного гена *BCR-ABL1* с *JAK2^{V617F}* составила 0,88 % (5/567), а с мутациями 9-го экзона гена *CALR* — 0,32 % (2/567). Медиана возраста на момент обнаружения сочетаний химерного гена *BCR-ABL1* и мутации *JAK2^{V617F}* в США составила 66 лет (диапазон 48–81 год) [18], в Германии — 72 года (диапазон

46–80 лет) [19]. Медиана возраста обследованных нами больных на момент обнаружения двух мутаций составила 60 лет (диапазон 51–66 лет). Анализ гендерных различий в случаях сочетания транскрипта *BCR-ABL1* и *JAK2^{V617F}* показал незначительное преобладание больных женского пола: от 52 % [19] до 64 % [18], тогда как в нашем исследовании большинство (4/7) составляли мужчины. При анализе литературных данных не удалось найти сведений о биологических закономерностях и хронологической последовательности приобретения химерного гена *BCR-ABL1* и мутаций генов *JAK2* и *CALR*. В представленном исследовании химерный ген *BCR-ABL1* был выявлен ранее

других мутаций в случаях 3, 6, 7; являлся вторым генетическим событием в случаях 2, 4, 5 и одновременно — в случае 1. Частота одномоментного выявления двух генетических аномалий среди больных в США составила 45 % (5/11), а в 55 % (6/11) случаев временной интервал был 87 месяцев (45–129 месяцев) [18]. В каждом случае ПМФ и ЭТ с мутацией *JAK2^{V617F}*, а также в 3 случаях ИП с мутацией *JAK2^{V617F}* в дальнейшем были выявлены химерный транскрипт *BCR-ABL1* и развитие ХМЛ [18]. Подобный клинический феномен трансформации *JAK2^{V617F}* ИП в *BCR-ABL1*⁺ ХМЛ через 12–18 лет наблюдения описан и другими исследователями [6, 38].

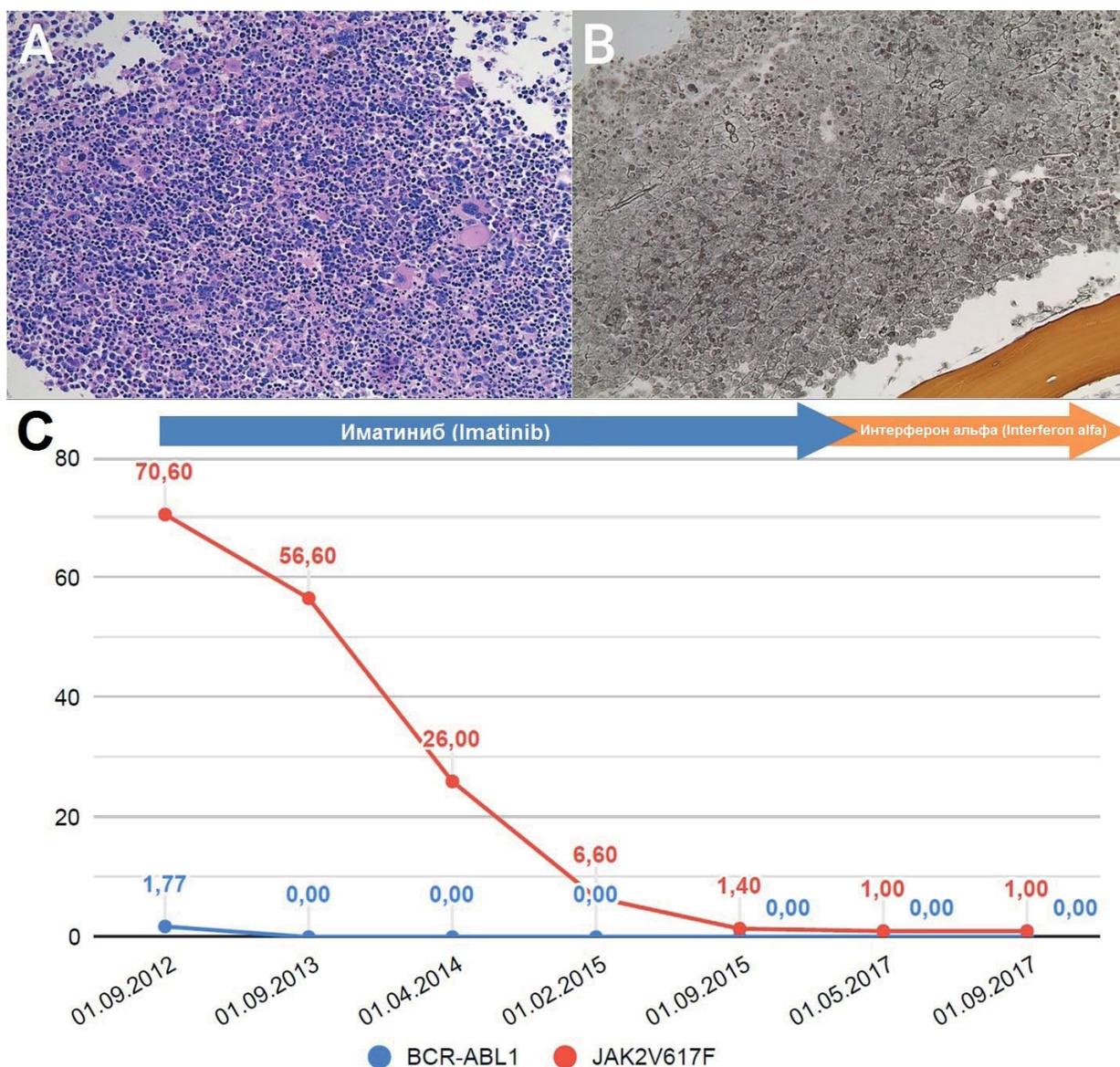


Рисунок 5. А — гиперклеточный костный мозг за счет трехростковой гиперплазии: эритроидный росток был представлен в виде «рассыпающихся» скоплений эритрокариоцитов нормобластического ряда, с признаками омоложения; гранулоцитарный росток на всех этапах дифференцировки. Мегакариоциты — полиморфны по размерам и морфологии, располагались преимущественно разрозненно. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. ×200. В — степень ретикулинового фиброза стромы MF-0 с участками MF-1 менее 30 %. Окраска по Гомори. Ув. ×200. С — кинетика уровня транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки мутации *JAK2^{V617F}* у больного Д. Л.А.

Figure 5. А — hypercellular bone marrow with panmyelosis. Erythropoiesis is normoblastic, represented by large loose groups of erythroid cells with the “left shift”. Granulocytes at every differentiation stage are detectable. Numerous megakaryocytes vary in size and morphology; they are predominantly loosely scattered. Stain: H&E. Magnification: ×200. В — stromal reticulin fibrosis grade MF-0, with less than 30 % of MF-1 areas. Stain: Gomori silver. Magnification: ×200. С — kinetics of the *BCR-ABL1* transcript level and allele burden of *JAK2^{V617F}*

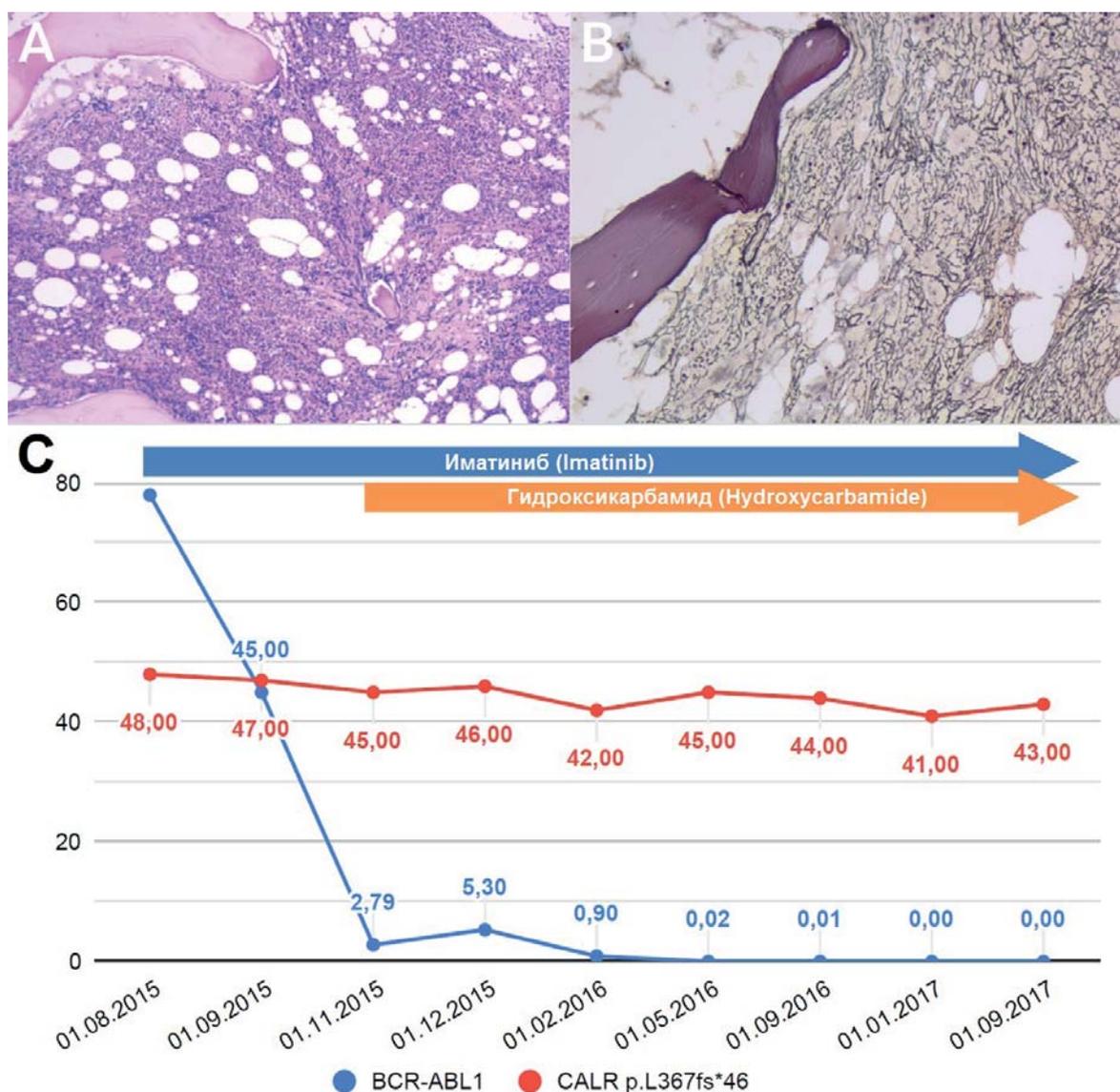


Рисунок 6. А — гиперклеточный костный мозг с гиперплазией гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков. Среди клеток гранулоцитарного ряда преобладают зрелые формы, много клеток эозинофильного ряда. Эритроидный росток в достаточном количестве, часть клеток с омоложением. Отмечается пролиферация мегакариоцитов. Мегакариоциты полиморфны (от крупных клеток со зрелой морфологией, гиперсегментированными ядрами до небольшого размера клеток с гиполобулярными ядрами, нарушенным ядерно-цитоплазматическим соотношением), формируют отдельные рыхлые кластеры. В — при окраске по Гомори степень ретикулинового фиброза MF-2. С — кинетика уровней транскрипта BCR-ABL1 и аллельной нагрузки мутации CALR p.L367fs*46

Figure 6. А — hypercellular bone marrow with the expansion of predominantly two cell lineages of myelopoiesis. Granulocytic expansion with predominantly mature forms, focal increase of eosinophilic granulocytes count. Erythroid cell count lies within the normal range and the lineage is represented by normoblastic erythrokaryocytes clusters with the admixture of erythroid precursors. Megakaryocytes are polymorphic (from large mature cells with hypersegmented nuclei to small ones with hypolobulated nuclei and disturbance of the nuclear to cytoplasmic ratio), form distinct loose clusters. Stain: H&E. Magnification: $\times 200$. В — stromal reticulin fibrosis grade MF-2. Stain: Gomori silver. Magnification: $\times 200$. С — kinetics of the BCR-ABL1 transcript level and allele burden of CALR p.L367fs*46

Имеются данные о развитии $JAK2^{V617F+}$ и $CALR^+$ МПН у больных ХМЛ с цитогенетической и глубокой молекулярной ремиссией [3, 16]. В описанном нами наблюдении № 7 $CALR^+$ ЭТ был выявлен через 17 лет после установления клинического диагноза ХМЛ и при глубоком МО. Нерешенным остается вопрос, является ли химерный ген $BCR-ABL1$ и мутации генов $JAK2^{V617F}$ и $CALR$ молекулярными событиями одной патогенетической цепи или нет. Результаты некоторых исследований показывают сложность молекулярного патогенеза МПН, зачастую не ограничивающегося

тремя общепризнанными «драйверами». Известно, что в 47 % случаев «драйверным» мутациям предшествуют мутации генов $DNMT3A$, $TET2$, $ASXL1$, $IDH2$, $SRSF2$ и $EZH2$, вероятно, являющиеся предрасполагающими факторами геномной нестабильности гемопоэтической стволовой клетки (ГСК) [34, 39, 40]. Методом секвенирования следующего поколения (NGS — next generation sequencing) в образцах 23 больных с сочетанными мутациями $BCR-ABL1$ и $JAK2^{V617F}$ были обнаружены мутации в генах $TET2$, $ASXL1$, $RUNX1$, CBL , $DNMT3A$, $PHF6$, $SF3B1$ и $TP53$ с высокой частотой,

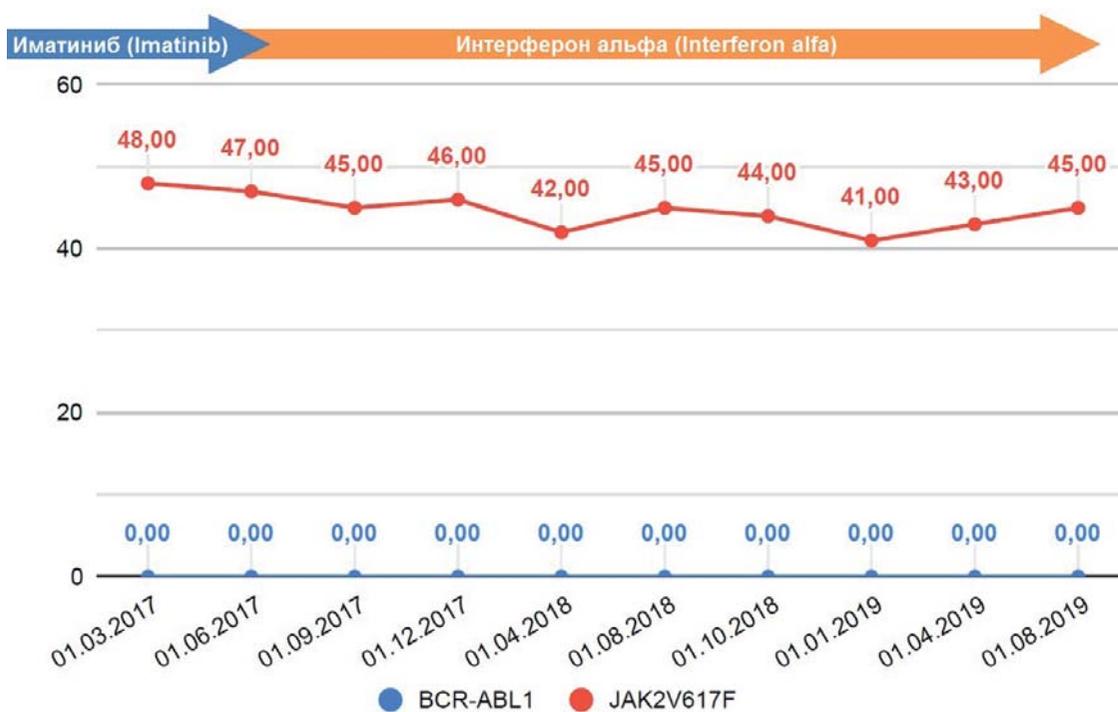


Рисунок 7. Кинетика уровней транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки *CALR* с.1154_1155insTGTC p.K385fs*47 у больного В. В.С
Figure 7. Kinetics of the *BCR-ABL1* transcript level and allele burden of *CALR* с.1154_1155insTGTC p.K385fs*47

что также может указывать на их роль в качестве предрасполагающих факторов в молекулярном патогенезе МПН [19].

Анализ литературы показал, что кинетика отдельных клонов, определяемая по изменению уровня транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки *JAK2^{V617F}* и *CALR^{min 1,2}*, имеет свои особенности. В немецком исследовании у 88 % (16/18) больных ХМЛ определялась разновекторная кинетика транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки *JAK2^{V617F}*, что, по мнению авторов, является результатом сосуществования двух разных клонов [19]. Синхронная кинетика уровня транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки *JAK2^{V617F}* под действием таргетной терапии препаратами ИТК наблюдается редко. Только у 18 % (2/11) больных ХМЛ в США отмечалось синхронное снижение уровня транскрипта *BCR-ABL1* и аллельной нагрузки *JAK2^{V617F}* до недектируемого уровня [18].

В клиническом наблюдении 5 терапия иматинибом в дозе 400 мг/сут в течение 24 месяцев привела к синхронному снижению уровня транскрипта *BCR-ABL1* с 1,77 до 0 %, а аллельной нагрузки мутации *JAK2^{V617F}* — с 76 до 1 %. Учитывая, что препараты ИТК являются селективными ингибиторами только рецепторных тирозинкиназ *ABL1*, *KIT* и *PDGF*, но не активны в отношении *JAK2*, мы предполагаем, что в этом случае обе мутации возникли в одной ГСК, давшей начало всему патогенному клону МПН.

Какова прогностическая важность обнаружения сочетаний транслокации *BCR-ABL1* с другими драйверными мутациями при МПН? Существует мнение,

что мутация *JAK2^{V617F}* может быть плохим прогностическим маркером ранней прогрессии ХМЛ [22]. Анализ собственных результатов показал, что лишь в 28 % (2/7) случаев ХМЛ с мутацией *JAK2^{V617F}* не был достигнут БМО при терапии препаратами ИТК. При этом в 72 % (5/7) случаев больные достигли глубокого МО, а у 4 больных с глубоким МО терапия ИТК была прекращена, и больные сохраняют молекулярную ремиссию без таргетного лечения.

По каким признакам можно подозревать наличие второго МПН? Наши данные подтверждают описанные в литературе наблюдения, свидетельствующие о несоответствии выявляемой гепатомегалии и спленомегалии, нарастающих тромбоцитоза, лейкоцитоза или эритроцитоза с уровнем цитогенетического ответа или МО у больных ХМЛ, что является показанием к поиску других драйверных мутаций МПН [16]. В обследованной популяции больных ХМЛ наиболее частым признаком сопутствующего МПН были нарастающие лейкоцитоз (в случаях 2, 4, 5) и тромбоцитоз (в случаях 6 и 7), часто не соответствующие уровню транскрипта *BCR-ABL1*.

Не существует единой позиции и в вопросах формирования клинического диагноза и выбора терапии. Например, по мнению американских ученых, совместное появление транскрипта *BCR-ABL1* и *JAK2^{V617F}* чаще всего отражает два различных миелопролиферативных новообразования [18]. Клинико-фенотипическое доминирование одной из нозологий объясняется феноменом «пролиферативной конкуренции», согласно которой *BCR-ABL1* является источником более силь-

ной сигнализации, ведущей к более высокой пролиферации, чем мутация $JAK2^{V617F}$ или $CALR^{mut 1,2}$ [14, 22].

Терапевтический эффект ингибиторов $BCR-ABL1$ -тирозинкиназ проявляется изолированным снижением уровня транскрипта $BCR-ABL1$, но не аллельной нагрузки мутаций генов $JAK2$ и $CALR$. В исследованной группе больных мы выделили три типа кинетики изменения уровня транскрипта $BCR-ABL1$ и аллельной нагрузки мутации $JAK2^{V617F}$ (рис. 8).

Первый тип кинетики (параллельное снижению уровня транскрипта $BCR-ABL1$ и аллельной нагрузки мутации $JAK2^{V617F}$), наблюдаемый при таргетной терапии препаратами ИТК, характерен когда один клон несет две мутации (патогенез МПН является бимутационно-моноклональной) (рис. 8 А). Подобное наблюдение также описано С.Р. Soderquist и соавт. [18]. Второй тип кинетики (вектор кинетики уровня транскрипта $BCR-ABL1$ и мутации $JAK2^{V617F}$ имеет разнонаправленный характер — снижение уровня $BCR-ABL1$ сопровождается ростом аллельной нагрузки $JAK2^{V617F}$) характерен для МПН с двумя клонами, несущими в себе по одной мутации, как в описанном клиническом наблюдении 2 (рис. 8 В). В данном случае элиминация $BCR-ABL1^+$ клона под воздействием ИТК приводит к расширению $JAK2^{V617F+}$ клона и фенотипической манифестации сопутствующего МПН [16]. Третий тип кинетики (аллельная нагрузка $JAK2^{V617F}$ сначала синхронно снижается с уровнем $BCR-ABL1$, а затем их кинетика становится разнонаправленной) характерен для патогенеза МПН со сложной клональной архитектурой. Вероятно, снижение аллельной нагрузки $JAK2^{V617F}$ при терапии препаратом ИТК происходит за счет элиминации $JAK2^{V617F+}/BCR-ABL1^+$ клона, как в случаях 1 и 5 (рис. 8 С). К аналогичному выводу приходят также J. Grisouard и соавт. [12], описывающие случай, когда из трех ($BCR-ABL1^+$, $JAK2^{V617F+}$ и $BCR-ABL1^+/JAK2^{V617F+}$) клонов наиболее чувствительным к терапии препаратами ИТК оказался $BCR-ABL1^+/JAK2^{V617F+}$ субклон. Вопрос о необходимости описания и классификации миелопролиферативных новообразований с более чем одной генетической аномалией уже поднимался в литературе [16]. Мы уверены, что дальнейшее накопление сведений о патогенетических механизмах сочетаний разных нозологий МПН

необходимо для выработки адекватных клинических диагнозов и разработки эффективных методов комбинированной таргетной терапии с включением препаратов, направленных на сопутствующие драйверные мутации.

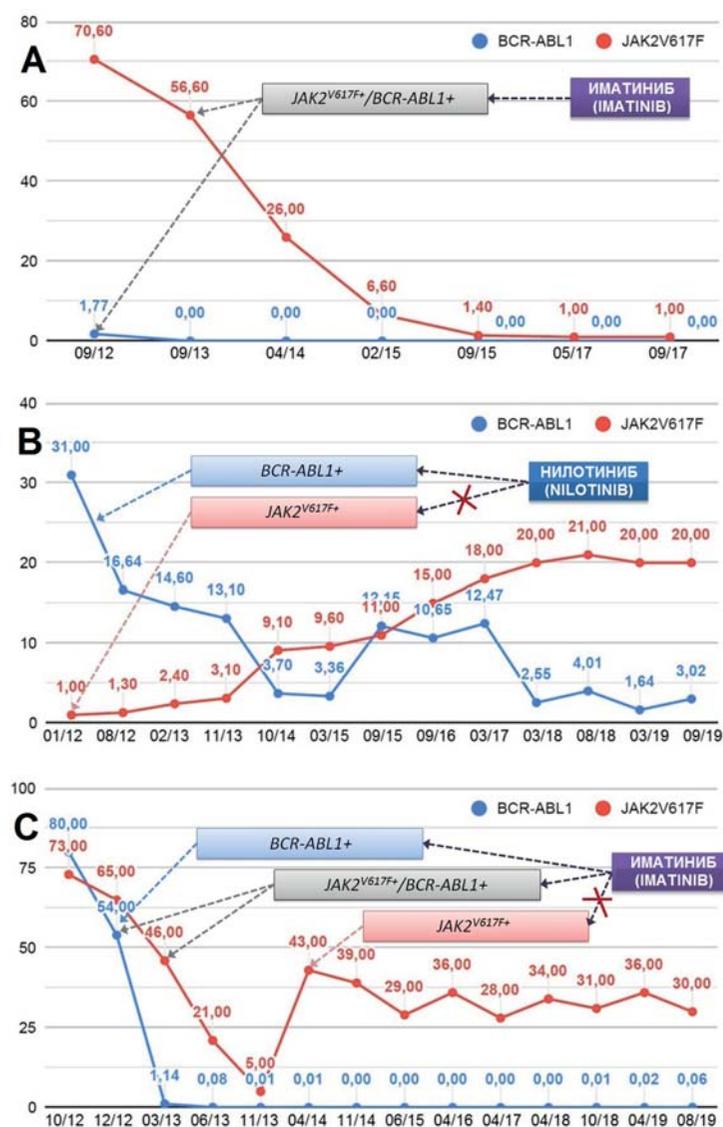


Рисунок 8. Клональная архитектура МПН и кинетика уровней транскрипта $BCR-ABL1$ и аллельной нагрузки мутации $JAK2^{V617F}$ под воздействием терапии препаратами ИТК

Figure 8. Clonal architecture of MPN and kinetics of the $BCR-ABL1$ transcript level and allele burden of $JAK2^{V617F}$ under TKI therapy

Литература

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H. et al. (Eds): WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). IARC: Lyon, 2017.
2. Mirza I., Frantz C., Clarke G. et al. Transformation of polycythemia vera to chronic myelogenous leukemia. Arch Pathol Lab Med. 2007; 131(11): 1719–24. DOI: 10.1043/1543-2165(2007)131[1719:TOPVTC]2.0.CO;2.
3. Inami M., Inokuchi K., Okabe M. et al. Polycythemia associated with the $JAK2^{V617F}$ mutation emerged during treatment of chronic myelogenous leukemia. Leukemia. 2007; 21(5): 1103–1104. DOI: 10.1038/sj.leu.2404591.

References

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H. et al. (Eds): WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). IARC: Lyon, 2017.
2. Mirza I., Frantz C., Clarke G. et al. Transformation of polycythemia vera to chronic myelogenous leukemia. Arch Pathol Lab Med. 2007; 131(11): 1719–24. DOI: 10.1043/1543-2165(2007)131[1719:TOPVTC]2.0.CO;2.
3. Inami M., Inokuchi K., Okabe M. et al. Polycythemia associated with the $JAK2^{V617F}$ mutation emerged during treatment of chronic myelogenous leukemia. Leukemia. 2007; 21(5): 1103–1104. DOI: 10.1038/sj.leu.2404591.

4. Bee P.C., Gan G.G., Nadarajan V.S. et al. A man with concomitant polycythaemia vera and chronic myeloid leukemia: the dynamics of the two disorders. *Int J Hematol.* 2010; 91: 136–139. DOI: 10.1007/s12185-009-0471-6.
5. Cambier N., Renneville A., Cazaentre T. et al. JAK2V617F-positive polycythemia vera and Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia: one patient with two distinct myeloproliferative disorders. *Leukemia.* 2008; 22(7): 1454–5. DOI: 10.1038/sj.leu.2405088.
6. Wang X., Tripodi J., Kremyanskaya M. et al. *BCR-ABL1* is a secondary event after JAK2V617F in patients with polycythemia vera who develop chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2013; 121(7): 1238–9. DOI: 10.1182/blood-2012-11-467787.
7. Siricilla M., Nader K., Ferber A. A case report of chronic myelogenous leukemia with JAK2- and *BCR-ABL*-positive mutation. *Am J Hematol Oncol.* 2017; 13(2).
8. Qin Y.W., Yang Y.N., Li S. et al. Coexistence of JAK2V617F mutation and *BCR-ABL* translocation in a pregnant woman with essential thrombocythemia. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2014; 30(suppl 1): 331–4. DOI: 10.1007/s12288-014-0385-1.
9. Wahlin A., Golovleva I. Emergence of Philadelphia positive chronic myeloid leukemia during treatment with hydroxyurea for Philadelphia negative essential thrombocytosis. *Eur J Hematol.* 2003; 70(4): 240–1. DOI: 10.1034/j.1600-0609.2003.00043.x.
10. Lippert E., Boissinot M., Kralovics R. et al. The JAK2-V617F mutation is frequently present at diagnosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood.* 2006; 108(6): 1865–7. DOI: 10.1182/blood-2006-01-013540.
11. Tabassum N., Saboor M., Ghani R. et al. Frequency of JAK2 V617F mutation in patients with Philadelphia positive chronic myeloid leukemia in Pakistan. *Pak J Med Sci.* 2014; 30(1): 185–8. DOI: 10.12669/pjms.301.3906.
12. Grisouard J., Ojeda-Urbe M., Looser M. et al. Complex subclone structure that responds differentially to therapy in a patient with essential thrombocythemia and chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2013; 122(22): 3694–6. DOI: 10.1182/blood-2013-07-516385.
13. Hassankrishnamurthy S., Mody M.D., Kota V.K. A Case of Chronic Myelogenous Leukemia Occurring in a Patient Treated for Essential Thrombocythemia. *Am J Case Rep.* 2019; 20: 10–4. DOI: 10.12659/AJCR.911854.
14. Hussein K., Bock O., Seegers A. et al. Myelofibrosis evolving during imatinib treatment of a chronic myeloproliferative disease with coexisting *BCR-ABL* translocation and JAK2V617F mutation. *Blood.* 2007; 109(9): 4106–7. DOI: 10.1182/blood-2006-12-061135.
15. Bader G., Dreiling B. Concurrent JAK2-Positive Myeloproliferative Disorder and Chronic Myelogenous Leukemia: A Novel Entity? A Case Report with Review of the Literature. *J Investig Med High Impact Case Rep.* 2019; 7: 1–5. DOI: 10.1177/2324709619832322.
16. Lee Y.J., Moon J.H., Shin H.C. et al. Two CML patients who subsequently developed features of essential thrombocythemia with JAK2-V617F mutation while in complete cytogenetic remission after treatment with imatinib mesylate. *Int J Hematol.* 2013; 97(6): 804–7. DOI:10.1007/s12185-013-1326-8.
17. Jelinek J., Oki Y., Gharibyan V. et al. JAK2 Mutation 1849G>T is Rare in Acute Leukemias but Can be Found in CMML, Philadelphia Chromosome negative CML, and Megakaryocytic Leukemia. *Blood.* 2005; 106(10): 3370–3. DOI: 10.1182/blood-2005-05-1800.
18. Soderquist C.R., Ewalt M.D., Czuchlewski D.R. et al. Myeloproliferative neoplasms with concurrent *BCR-ABL1* translocation and JAK2 V617F mutation: a multi-institutional study from the bone marrow pathology group. *Mod Pathol.* 2018; 31(5): 690–704. DOI: 10.1038/modpathol.2017.182.

19. Martin-Cabrera P., Haferlach C., Kern W. et al. BCR-ABL1-positive and JAK2 V617F-positive clones in 23 patients with both aberrations reveal biologic and clinical importance. *Br J Hematol.* 2017; 176(1): 135–9. DOI: 10.1111/bjh.13932.
20. Lewandowski K., Wojtaszewska M., Kandaia Z. et al. Coexistence of JAK2 or CALR mutation is a rare but clinically important event in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors. *Int J Lab Hematol.* 2018; 40(3): 366–71. DOI: 10.1111/ijlh.12798.
21. Trejo R.M.A., Gonzalez V.A., Saldivar I. et al. High Frequency of Concurrent JAK2 V617F Mutation and BCR/ABL Fusion Gene in a Cohort (18/142) of Mexican Patients with MPD. *Blood.* 2012; 120: 1766.
22. Pahore Z.A., Shamsi T.S., Taj M. et al. JAK2V617F mutation in chronic myeloid leukemia predicts early disease progression. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2011; 21(8): 472–5. DOI: 08.2011/JCPS.472475.
23. Nangalia J., Massie C.E., Baxter E.J. et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med.* 2013; 369: 2391–405. DOI: 10.1056/NEJMoa1312542.
24. Klamfl T., Gisslinger H., Harutyunyan A.S. et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med.* 2013; 369: 2379–90. DOI: 10.1056/NEJMoa1311347.
25. Qiao C., Sun C., Ouyang Y. et al. Clinical importance of different calreticulin gene mutation types in wild-type JAK2 essential thrombocythemia and myelofibrosis patients. *Haematologica.* 2014; 99: e183. DOI: 10.3324/haematol.2014.109199.
26. Pagoni M., Garofalaki M., Tziotziou I. et al. Concurrent or Sequential BCR-ABL1 translocation and Calr gene or JAK2V617F mutation. 58th ASH Annual meeting. San Francisco. 6–9.12.2014. <https://ash.confex.com/ash/2014/web-program/Paper68049.html>.
27. Cabagnols X., Cayuela J.M., Vainchenker W. A CALR Mutation Preceding BCR-ABL1 in an Atypical Myeloproliferative Neoplasm. *N Engl J Med.* 2015; 372(7): 688–90. DOI: 10.1056/NEJMc1413718.
28. Bonzheim I., Mankel B., Klapthor P. et al. CALR-mutated essential thrombocythemia evolving to chronic myeloid leukemia with coexistent CALR mutation and BCR-ABL translocation. *Blood.* 2015; 125(14): 2309–11. DOI: 10.1182/blood-2014-12-616847.
29. Loghavi S., Pemmaraju N., Kanagal-Shamanna R. et al. Insights from response to tyrosine kinase inhibitor therapy in a rare myeloproliferative neoplasm with CALR mutation and BCR-ABL1. *Blood.* 2015; 125(21): 3360–3. DOI: 10.1182/blood-2015-03-632893.
30. Seghatoleslami M., Ketabchi N., Ordo A. et al. Coexistence of p190 BCR/ABL Transcript and CALR 52-bp Deletion in Chronic Myeloid Leukemia Blast Crisis: A Case Report. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2016; 8(1): e2016002. DOI: 10.4084/MJHID.2016.002.
31. Diamond J.M., de Almeida A.M., Belo H.J. et al. CALR-mutated primary myelofibrosis evolving to chronic myeloid leukemia with both CALR mutation and BCR-ABL1 fusion gene. *Ann Hematol.* 2016; 95(12): 2101–4. DOI: 10.1007/s00277-016-2827-3.
32. Patel S., Kim S.H., Shammo J.M. et al. Patient with myeloproliferative neoplasms (MPN) who later develop ph+ chronic myelogenous leukemia (CML): a case series. *J Clin Oncol.* 2017; 35(suppl): e18563. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.e18563.
33. Dogliotti I., Carmen F., Serra A. et al. CALR-positive myeloproliferative disorder in a patient with Ph-positive chronic myeloid leukemia in durable treatment-free remission: a case report. *Stem Cell Investig.* 2017; 4: 57. DOI: 10.21037/sci.2017.06.02.
19. Martin-Cabrera P., Haferlach C., Kern W. et al. BCR-ABL1-positive and JAK2 V617F-positive clones in 23 patients with both aberrations reveal biologic and clinical importance. *Br J Hematol.* 2017; 176(1): 135–9. DOI: 10.1111/bjh.13932.
20. Lewandowski K., Wojtaszewska M., Kandaia Z. et al. Coexistence of JAK2 or CALR mutation is a rare but clinically important event in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors. *Int J Lab Hematol.* 2018; 40(3): 366–71. DOI: 10.1111/ijlh.12798.
21. Trejo R.M.A., Gonzalez V.A., Saldivar I. et al. High Frequency of Concurrent JAK2 V617F Mutation and BCR/ABL Fusion Gene in a Cohort (18/142) of Mexican Patients with MPD. *Blood.* 2012; 120: 1766.
22. Pahore Z.A., Shamsi T.S., Taj M. et al. JAK2V617F mutation in chronic myeloid leukemia predicts early disease progression. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2011; 21(8): 472–5. DOI: 08.2011/JCPS.472475.
23. Nangalia J., Massie C.E., Baxter E.J. et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med.* 2013; 369: 2391–405. DOI: 10.1056/NEJMoa1312542.
24. Klamfl T., Gisslinger H., Harutyunyan A.S. et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med.* 2013; 369: 2379–90. DOI: 10.1056/NEJMoa1311347.
25. Qiao C., Sun C., Ouyang Y. et al. Clinical importance of different calreticulin gene mutation types in wild-type JAK2 essential thrombocythemia and myelofibrosis patients. *Haematologica.* 2014; 99: e183. DOI: 10.3324/haematol.2014.109199.
26. Pagoni M., Garofalaki M., Tziotziou I. et al. Concurrent or Sequential BCR-ABL1 translocation and Calr gene or JAK2V617F mutation. 58th ASH Annual meeting. San Francisco. 6–9.12.2014. <https://ash.confex.com/ash/2014/web-program/Paper68049.html>.
27. Cabagnols X., Cayuela J.M., Vainchenker W. A CALR Mutation Preceding BCR-ABL1 in an Atypical Myeloproliferative Neoplasm. *N Engl J Med.* 2015; 372(7): 688–90. DOI: 10.1056/NEJMc1413718.
28. Bonzheim I., Mankel B., Klapthor P. et al. CALR-mutated essential thrombocythemia evolving to chronic myeloid leukemia with coexistent CALR mutation and BCR-ABL translocation. *Blood.* 2015; 125(14): 2309–11. DOI: 10.1182/blood-2014-12-616847.
29. Loghavi S., Pemmaraju N., Kanagal-Shamanna R. et al. Insights from response to tyrosine kinase inhibitor therapy in a rare myeloproliferative neoplasm with CALR mutation and BCR-ABL1. *Blood.* 2015; 125(21): 3360–3. DOI: 10.1182/blood-2015-03-632893.
30. Seghatoleslami M., Ketabchi N., Ordo A. et al. Coexistence of p190 BCR/ABL Transcript and CALR 52-bp Deletion in Chronic Myeloid Leukemia Blast Crisis: A Case Report. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2016; 8(1): e2016002. DOI: 10.4084/MJHID.2016.002.
31. Diamond J.M., de Almeida A.M., Belo H.J. et al. CALR-mutated primary myelofibrosis evolving to chronic myeloid leukemia with both CALR mutation and BCR-ABL1 fusion gene. *Ann Hematol.* 2016; 95(12): 2101–4. DOI: 10.1007/s00277-016-2827-3.
32. Patel S., Kim S.H., Shammo J.M. et al. Patient with myeloproliferative neoplasms (MPN) who later develop ph+ chronic myelogenous leukemia (CML): a case series. *J Clin Oncol.* 2017; 35(suppl): e18563. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.e18563.
33. Dogliotti I., Carmen F., Serra A. et al. CALR-positive myeloproliferative disorder in a patient with Ph-positive chronic myeloid leukemia in durable treatment-free remission: a case report. *Stem Cell Investig.* 2017; 4: 57. DOI: 10.21037/sci.2017.06.02.

34. Kandarpa M., Wu Y.M., Robinson D. et al. Clinical characteristics and whole exome/transcriptome sequencing of coexisting chronic myeloid leukemia and myelofibrosis. *Am J Hematol.* 2017; 92(6): 555–61. DOI: 10.1002/ajh.24728.
35. De Roeck L., Michaux L., Debackere K. et al. Coexisting driver mutations in MPN: clinical and molecular characteristics of a series of 11 patients. *Hematology.* 2018; 11: 1–8. DOI: 10.1080/10245332.2018.1498182.
36. Boddu P., Chihara D., Masarova L. et al. The co-occurrence of driver mutations in chronic myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol.* 2018; 97(11): 2071–80. DOI: 10.1007/s00277-018-3402-x.
37. Mughal T.I., Gotlib J., Mesa R. et al. Recent advances in the genomics and therapy of BCR/ABL1-positive and -negative chronic myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res.* 2018; 67: 67–74. DOI: 10.1016/j.leukres.2018.02.008.
38. Pingali S.R., Mathiason M.A., Lovrich S.D., Go R.S. Emergence of chronic myelogenous leukemia from a background of myeloproliferative disorder: JAK2V617F as a potential risk factor for BCR-ABL translocation. *Clin Lymphoma, Myeloma.* 2009; 9(5): E25–9. DOI: 10.3816/CLM.2009.n.080.
39. Magor G.W., Tallack M.R., Klose N.M. et al. Rapid Molecular Profiling of Myeloproliferative Neoplasms Using Targeted Exon Resequencing of 86 Genes Involved in JAK-STAT Signaling and Epigenetic Regulation. *J Mol Diagn.* 2016; 18: 707–18. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2016.05.006.
40. Stein B.L., Williams D.M., O’Keefe C. et al. Disruption of the ASXL1 gene is frequent in primary, post-essential thrombocytosis and post-polycythemia vera myelofibrosis, but not essential thrombocytosis or polycythemia vera: analysis of molecular genetics and clinical phenotypes. *Haematologica.* 2011; 96: 1462–9. DOI: 10.3324/haematol.2011.045591.

Информация об авторах

Абдуллаев Адхамжон Одилович*, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: adham_abdullaev@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2530-808X>

Степанова Елена Александровна, научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: stepanova173@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8187-5639>

Макарик Татьяна Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: makarik_71@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1454-3471>

Никулина Елена Евгеньевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: lenysh2007@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3914-8611>

34. Kandarpa M., Wu Y.M., Robinson D. et al. Clinical characteristics and whole exome/transcriptome sequencing of coexisting chronic myeloid leukemia and myelofibrosis. *Am J Hematol.* 2017; 92(6): 555–61. DOI: 10.1002/ajh.24728.
35. De Roeck L., Michaux L., Debackere K. et al. Coexisting driver mutations in MPN: clinical and molecular characteristics of a series of 11 patients. *Hematology.* 2018; 11: 1–8. DOI: 10.1080/10245332.2018.1498182.
36. Boddu P., Chihara D., Masarova L. et al. The co-occurrence of driver mutations in chronic myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol.* 2018; 97(11): 2071–80. DOI: 10.1007/s00277-018-3402-x.
37. Mughal T.I., Gotlib J., Mesa R. et al. Recent advances in the genomics and therapy of BCR/ABL1-positive and -negative chronic myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res.* 2018; 67: 67–74. DOI: 10.1016/j.leukres.2018.02.008.
38. Pingali S.R., Mathiason M.A., Lovrich S.D., Go R.S. Emergence of chronic myelogenous leukemia from a background of myeloproliferative disorder: JAK2V617F as a potential risk factor for BCR-ABL translocation. *Clin Lymphoma, Myeloma.* 2009; 9(5): E25–9. DOI: 10.3816/CLM.2009.n.080.
39. Magor G.W., Tallack M.R., Klose N.M. et al. Rapid Molecular Profiling of Myeloproliferative Neoplasms Using Targeted Exon Resequencing of 86 Genes Involved in JAK-STAT Signaling and Epigenetic Regulation. *J Mol Diagn.* 2016; 18: 707–18. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2016.05.006.
40. Stein B.L., Williams D.M., O’Keefe C. et al. Disruption of the ASXL1 gene is frequent in primary, post-essential thrombocytosis and post-polycythemia vera myelofibrosis, but not essential thrombocytosis or polycythemia vera: analysis of molecular genetics and clinical phenotypes. *Haematologica.* 2011; 96: 1462–9. DOI: 10.3324/haematol.2011.045591.

Information about the authors

Adhamjon O. Abdullaev*, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: adham_abdullaev@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2530-808X>

Elena A. Stepanova, Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: stepanova173@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8187-5639>

Tatyana V. Makarik, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: makarik_71@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1454-3471>

Elena Y. Nikulina, Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: lenysh2007@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3914-8611>

Треглазова Светлана Анатольевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: svetik997@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2698-7168>

Горячева Светлана Рудольфовна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог консультативного гематологического отделения с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: goryacheva.s@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3906-9171>

Шухов Олег Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-консультативного отделения химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: shuhov@list.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5393-0816>

Быкова Анастасия Витальевна, врач-гематолог научно-консультативного отделения химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: ivlutaya@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3123-8316>

Трацевская Жанна Викторовна, врач-патологоанатом патолого-анатомического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: tratsevskaya.zh@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2197-7358>

Меликян Анаит Леоновна, доктор медицинских наук, заведующая отделением стандартизации методов лечения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: anoblood@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2119-3775>

Ковригина Алла Михайловна, доктор биологических наук, заведующая патолого-анатомическим отделением ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: kovrigina.alla@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1082-8659>

Svetlana A. Treglazova, Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: svetik997@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2698-7168>

Svetlana R. Goryacheva, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology,
e-mail: goryacheva.s@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3906-9171>

Oleg A. Shukhov, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Scientific Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology,
e-mail: shuhov@list.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5393-0816>

Anastasiya V. Bykova, Hematologist, Scientific Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology,
e-mail: ivlutaya@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3123-8316>

Zhanna V. Tratsevskaya, Pathologist, Pathology Department, National Research Center for Hematology,
e-mail: tratsevskaya.zh@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2197-7358>

Anait L. Melikyan, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Standardization of Methods of Therapy, National Research Center for Hematology,
e-mail: anoblood@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2119-3775>

Alla M. Kovrigina, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Pathology Department, National Research Center for Hematology,
e-mail: kovrigina.alla@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1082-8659>

Туркина Анна Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая научно-консультативным отделением химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: turkianna@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9947-2371>

Судариков Андрей Борисович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dusha@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 22.11.2019

Принята к печати: 25.12.2019

Anna G. Turkina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Scientific Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology,
e-mail: turkianna@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9947-2371>

Andrey B. Sudarikov, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: dusha@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

*** Corresponding author**

Received 22 Nov 2019

Accepted 25 Dec 2019

<https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-281-290>

ПРОДУКЦИЯ БИОПЛЕНОК СРЕДИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНВАЗИВНОГО КАНДИДОЗА У БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СИСТЕМЫ КРОВИ И У БОЛЬНЫХ БЕЗ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СИСТЕМЫ КРОВИ

Мальчикова А. О., Клясова Г. А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Негативное влияние на результаты лечения инвазивного кандидоза может оказывать способность *Candida* spp. формировать биопленки на инвазивных медицинских устройствах у разных категорий больных.

Цель: оценить способность образовывать биопленки разных видов *Candida*, выделенных из клинически значимых образцов от больных опухолями системы крови и больных без опухолей системы крови.

Материалы и методы. Определение способности *Candida* spp. продуцировать биопленки проводили спектрофотометрическим методом с использованием соли тетразолия (ХТТ, Sigma-Aldrich, США). Изоляты *Candida* spp., имеющие значение оптической плотности от 0,1 и более, оценивали как образующие биопленки, менее 0,1 — как не способные к формированию биопленок.

Результаты. Было исследовано 428 *Candida* spp. (*C. albicans* $n = 192$, *C. parapsilosis* complex $n = 121$, *C. krusei* $n = 40$, *C. tropicalis* $n = 38$ и *C. glabrata* $n = 37$), из них 172 изолята были выделены от больных опухолями системы крови, 256 — от больных без опухолей системы крови, 361 — из гемокультуры, 67 — из других стерильных образцов. Способность формировать биопленки была определена у 41,8% ($n = 179$) *Candida* spp., с одинаковой частотой у больных опухолями системы крови и больных без опухолей системы крови (41,9 и 41,8% соответственно). *Candida non-albicans* чаще продуцировали биопленки в сравнении с *C. albicans* (52,5% против 28,6%, соответственно, $p < 0,001$). Значимо чаще продукция биопленок была у *C. tropicalis* (89,5%) и у *C. krusei* (75%) в сравнении с *C. parapsilosis* (41,3%), *C. albicans* (28,6%) и *C. glabrata* (27%, $p < 0,05$). Частота образования биопленок была высокой для *C. krusei* и *C. tropicalis* в обеих группах больных, в то время как *C. albicans*, выделенные от больных без опухолей системы крови, достоверно чаще продуцировали биопленки, чем в группе сравнения (34,1% против 18% соответственно, $p = 0,03$). Продукция биопленок была сопоставимой среди *Candida* spp., выделенных из гемокультуры (42,9%) и из других стерильных образцов (35,8%, $p = 0,3$).

Заключение. Способность к формированию биопленок различалась у разных видов *Candida* и преобладала у *C. tropicalis* и *C. krusei*. Продукция биопленок была выявлена с одинаковой частотой у больных опухолями и без опухолей системы крови.

Ключевые слова: кандидемия, *Candida* spp., биопленки, опухоли системы крови, гемобластозы, отделение реанимации и интенсивной терапии

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ АААА-А18-118012490209-7).

Для цитирования: Мальчикова А.О., Клясова Г.А. Продукция биопленок среди возбудителей инвазивного кандидоза у больных опухолевыми заболеваниями системы крови и у больных без опухолевых заболеваний системы крови. Гематология и трансфузиология. 2020; 65 (3): 281–290. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-281-290>

BIOFILM PRODUCTION AMONG *CANDIDA* SPP. CAUSING INVASIVE CANDIDIASIS IN PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES AND WITHOUT HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

Malchikova A. O.*, Klyasova G. A.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Biofilm-forming ability among *Candida* spp. on indwelling medical devices may have a negative influence on the outcome of invasive candidiasis in various groups of patients.

Aim. The objective of this study was to evaluate the biofilm-forming ability among *Candida* spp. isolated from clinical specimens in patients with hematological malignancies and patients without hematological malignancies.

Materials and methods. Biofilm production among *Candida* spp. was studied using XTT (Sigma-Aldrich, USA) reduction assay. *Candida* spp. were classified as biofilm-forming, having optical density equal to and more than 0.1, and non-biofilm-forming with optical density less than 0.1.

Results. A total of 428 *Candida* spp. (*C. albicans* $n = 192$, *C. parapsilosis* $n = 121$, *C. krusei* $n = 40$, *C. tropicalis* $n = 38$, *C. glabrata* $n = 37$) were evaluated (172 from hematological patients, 256 from non-hematological patients, 361 from blood culture, 67 from other sterile specimens). Biofilm-forming ability was detected among 179 (41.8%) *Candida* spp. with the same rate in hematological patients and non-hematological patients (41.9 % and 41.8 %, respectively). Biofilm production predominated among non-*C. albicans* (52.5 %) compared to *C. albicans* (28.6 %, $p = 0.001$). Biofilm production prevailed among *C. tropicalis* (89.5 %) and *C. krusei* (75 %) compared to *C. parapsilosis* (41.3 %), *C. albicans* (28.6 %), and *C. glabrata* (27 %, respectively, $p < 0.05$). Biofilm-forming ability among *C. tropicalis* and *C. krusei* dominated in both groups of patients. Biofilm production among *C. albicans* prevailed in non-hematological patients compared to hematological patients (34.1% vs 18.2%, $p = 0.03$). There were no differences in biofilm production among *Candida* spp. isolated from blood culture (42.9%) and other sterile specimens (35.8%, $p = 0.3$).

Conclusion. Biofilm-forming ability varied among the *Candida* spp. and prevailed among *C. tropicalis* and *C. krusei*. Biofilm production among *Candida* spp. was detected with the same rate in hematological and non-hematological patients.

Keywords: candidemia, *Candida* spp., biofilm production, hematological malignancies, intensive care unit

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the research was carried out within the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (No. AAAA-A18-118012490209-7).

For citation: Malchikova A.O., Klyasova G.A. Biofilm production among *Candida* spp. causing invasive candidiasis in patients with hematological malignancies and without hematological malignancies. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2020; 65(3): 281–290 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-281-290>

Введение

Инвазивный кандидоз у больных опухолями системы крови характеризуется тяжелым течением, длительным пребыванием в стационаре, высокой летальностью, достигающей 40–50%, и немалыми финансовыми затратами на лечение [1, 2]. В этиологической структуре сепсиса на долю *Candida* spp. приходится 2,8–7,4% [3–5]. Негативное влияние на процесс лечения инвазивного кандидоза может оказывать способность *Candida* spp. к формированию биопленок на сосудистых катетерах и других инвазивных медицинских устройствах, причем в последние годы частота детекции их в составе биопленок увеличилась. В исследовании М. Tumbarello и соавт. [6], включавшем 294 больных кандидемией в многопрофильном стационаре, было выявлено увеличение доли *Candida* spp. в составе биопленок с 36 до 67% в период с 2000 по 2004 гг. В последующих работах этой группы исследователей (2005–2007 гг.) было доказано, что летальность при инфекциях, вызванных *Candida* spp. в составе биопленок, была статистически значимо выше в сравнении с возбудителями, не способными формировать биопленку, и составила 51,2% против 31,7% ($p = 0,004$) [2]. Не все противогрибковые препараты проявляют активность в отношении биопленок *Candida* spp. В исследовании С. Tascini и соавт. [7] была отмечена крайне высокая частота летальных исходов, которая достигала 77%, при кандидемии, вызванной продуцентами биопленок, если для лечения были использованы противогрибковые препараты группы азолов.

Количество публикаций, в которых были освещены результаты изучения способности формирования биопленок среди возбудителей инвазивного кандидоза, невелико, и в них, как правило, представлены неоднородные данные по продукции биопленок среди разных видов *Candida*. Эти исследования важны для выбора тактики ведения больных с инвазивным кандидозом. До недавнего времени полагали, что инвазивный кандидоз, а следовательно, и факт продукции биопленок среди *Candida* spp., наблюдается в основном у больных опухолями системы крови.

Целью исследования было оценить способность к образованию биопленок среди разных видов *Candida*, выделенных из клинически значимых образцов от больных опухолями системы крови и без опухолей системы крови с симптомами инвазивного кандидоза.

Материалы и методы

Источники и видовая идентификация изолятов. В проспективное многоцентровое исследование с 2005 по 2017 г. было включено 428 последовательно выделенных неповторяющихся изолятов *Candida* spp. из стерильных в норме образцов от больных опухолями системы крови ($n = 172$) и больных без опухолей системы крови ($n = 256$) с инвазивным кандидозом из 11 ме-

дицинских учреждений 10 городов России. Выделение и первичная идентификация грибов проводились в локальных микробиологических лабораториях учреждений, участвовавших в исследовании. Изоляты *Candida* spp. с заполненными индивидуальными регистрационными картами передавали в транспортных средах в лабораторию клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Окончательная видовая идентификация всех *Candida* spp. была проведена методом матрично-активированной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с использованием системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper Real Time Classification, версия 3.1 (Bruker Daltonics, Германия). В качестве критерия надежной видовой идентификации микроорганизмов использовали рекомендуемые значения коэффициента соответствия (Score) от 2,0 и выше. До проведения исследования изоляты хранили в холодильнике при температуре $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 20% глицерина.

Определение способности к формированию биопленок. Определение способности *Candida* spp. продуцировать биопленки проводили спектрофотометрическим методом с использованием соли тетразолия — 2,3-бис-(2-метокси-4-нитро-5-сульфобензил)-5-[(фениламино)карбонил]-2-Н-тетразолия (ХТТ, Sigma-Aldrich, США) согласно схеме, предложенной Pierce С. G. и модифицированной Tumbarello М. [2, 8]. Вначале для проведения исследования готовили рабочие растворы. Соль тетразолия в количестве 0,25 г растворяли в 250 мл 0,01-М фосфатного буфера (Sigma-Aldrich, США), пропускали через фильтр с диаметром пор 0,22 мкм (Corning, США), разливали в стерильные сухие пробирки по 10 мл. Порошок менадиона (Sigma-Aldrich, США) растворяли в ацетоне (ЭКОС-1, Россия) до концентрации 1 мкМ и распределяли в стерильные сухие пробирки по 50 мкл. Приготовленные растворы в пробирках хранили при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ в холодильнике.

При каждой детекции продукции биопленок использовали референтные штаммы *C. parapsilosis* ATCC 22019 в качестве положительного контроля, в качестве отрицательного контроля — штамм *C. albicans* без продукции биопленок, имеющийся в лаборатории клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России.

Для исследования культуру *Candida* spp. наносили на твердую питательную среду Yeast Peptone Dextrose Agar (YPD Agar, Sigma-Aldrich, США) и инкубировали в термостате при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 18–24 ч. Параллельно готовили бульон YPD (Sigma-Aldrich, США). Для этого 12,5 г среды YPD растворяли

в 250 мл дистиллированной воды, автоклавировали 15 мин при 121 °С и после охлаждения до комнатной температуры разливали по 20 мл в колбы Эрленмейера объемом 150 мл (Duran, Германия). Затем суточную культуру *Candida* spp. вносили микробиологической петлей в колбы Эрленмейера, помещали их в шейкер-инкубатор (BioSan, Латвия) и инкубировали при 30 °С и 160 об./мин в течение 12–16 ч. После инкубации всю взвесь *Candida* spp. (20 мл) переносили в стерильные сухие пробирки, центрифугировали при 3000 g в течение 5 мин, трижды отмывали холодным стерильным 0,1-М фосфатным буфером, удаляли надосадочную жидкость, добавляли к осадку дрожжевых грибов бульон Сабуро (Oxoid, Англия), содержащий 8% глюкозы (Merck, Германия), и доводили дрожжевые клетки до количества 3×10^7 КОЕ/мл, постоянно осуществляя подсчет в камере Горяева. Далее по 100 мкл взвеси дрожжевых клеток последовательно переносили в ячейки от 1-го до 9-го рядов стерильного 96-луночного плоскодонного планшета в двух повторностях. Положительный и отрицательный контроли в объеме 100 мкл в двух повторностях добавляли в ячейки 10-го и 11-го рядов соответственно 96-луночного планшета. В ячейки 12-го ряда 96-луночного планшета суспензию не вносили и использовали как контроль фона. После инкубации 96-луночного планшета при 37 °С в течение 24 ч аккуратно пипеткой удаляли надосадочную жидкость из ячеек и трижды отмывали стерильным 0,15-М фосфатным буфером. Затем к 10 мл рабочего раствора соли тетразолия добавляли 1 мкл рабочего раствора менадиона, переносили полученную смесь по 100 мкл во все ячейки 96-луночного планшета, включая контрольные, и инкубировали при 37 °С в течение 5 ч в темноте.

Учет результатов выполняли спектрофотометрически с помощью микропланшетного ридера IMark (Bio-Rad, США) при длине волны 490 нм. Изоляты *Candida* spp., имевшие оптическую плотность (ОП)

от 0,1 и более, оценивали как формирующие биопленки; менее 0,1 — не способные к формированию биопленок.

Статистический анализ. Для анализа результатов исследования была создана база данных. Статистическую обработку результатов проводили в программе IBM SPSS Statistics, версия 21. Различия между характеристиками оценивали с помощью точного критерия Фишера и считали статистически значимыми при степени вероятности безошибочного прогноза 95% ($p < 0,05$).

Результаты

Способность к формированию биопленок была исследована у 428 *Candida* spp., включая *C. albicans* ($n = 192$), *C. parapsilosis* complex ($n = 121$), *C. krusei* ($n = 40$), *C. tropicalis* ($n = 38$) и *C. glabrata* ($n = 37$). Изоляты были выделены от больных опухолями системы крови ($n = 172$) и больных без опухолей системы крови ($n = 256$). Большинство больных без опухолей системы крови и инвазивным кандидозом (85%) находились на лечении в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Из гемокультуры было получено 86,3% ($n = 361$) *Candida* spp., из других клинически значимых образцов — 15,7% ($n = 67$), среди которых преобладали асцитическая жидкость ($n = 36$; 8,4%), далее следовали биоптаты органов и тканей ($n = 14$; 3,3%), спинномозговая жидкость ($n = 9$; 2,1%), желчь ($n = 5$; 1,2%) и суставная жидкость ($n = 3$; 0,7%).

Значения ОП варьировали среди изолятов (рис. 1). Наиболее высокие значения медианы ОП были обнаружены у *C. krusei* (0,771), далее следовали *C. tropicalis* (0,206), *C. parapsilosis* complex (0,075), *C. albicans* (0,065) и *C. glabrata* (0,057). Значения ОП от 0,5 и более чаще определялись у *C. krusei* (40%) в сравнении с *C. glabrata* (5,4%), *C. tropicalis* (5%), *C. parapsilosis* complex (1,7%) и полностью отсутствовали у *C. albicans* ($p < 0,05$). Основная доля изолятов имела значения ОП в диапа-

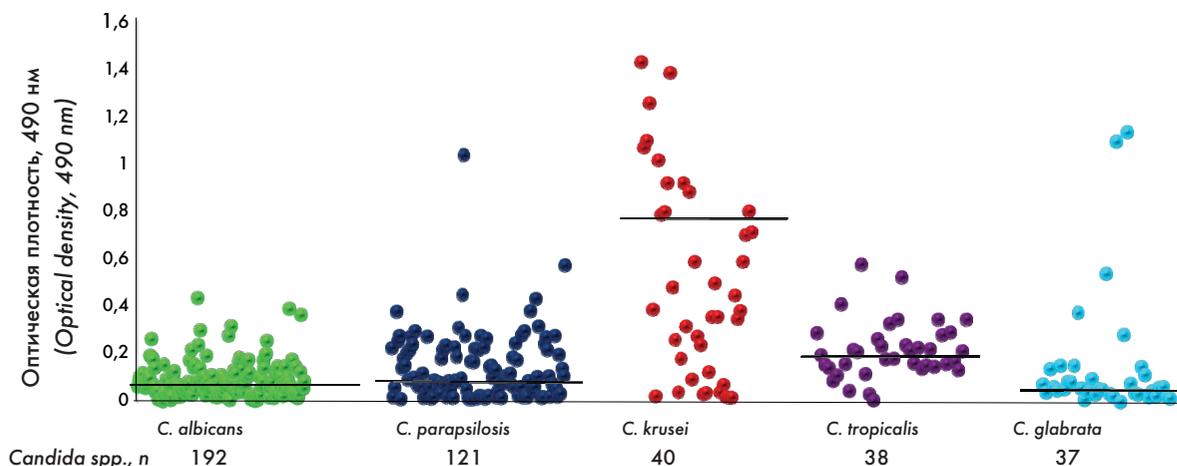


Рисунок 1. Распределение значений оптической плотности среди изолятов *Candida* spp. Черными линиями показаны медианы значений оптической плотности
Figure 1. Distribution of optical density values among *Candida* spp. The black lines show the means values of optical density

зоне от 0,1 до 0,499, и этот показатель чаще выявляли у *C. tropicalis* (84,2%) в сравнении с *C. parapsilosis* complex (39,7%), *C. krusei* (35%), *C. albicans* (23,4%) и *C. glabrata* (18,9%, $p < 0,05$).

Продукция биопленок была выявлена у 179 (41,8%) из 428 *Candida* spp. с одинаковой частотой среди изолятов, выделенных от больных опухолями системы крови (41,9%, 72 из 172) и больных без опухолей системы крови (41,8%, 107 из 256). Способность к формированию биопленок была несколько выше среди *Candida* spp., выделенных из гемокультуры (42,9%, 155 из 361), в сравнении с изолятами из других клинически значимых образцов (35,8%, 24 из 67), но отличия были недостоверными ($p > 0,05$).

На рисунке 2 представлена частота образования биопленок среди *C. albicans* и *Candida non-albicans*, выделенных от больных исследуемых групп и из разных клинически значимых образцов. При анализе *Candida* spp., полученных от всех больных, чаще биопленки продуцировали *Candida non-albicans* в сравнении с *C. albicans* (52,5% против 28,6% соответственно, $p < 0,001$) в основном за счет *Candida non-albicans*, выделенных из гемокультуры (52,8% против 28,3% соответственно, $p < 0,001$), рисунок 2 А. Более выраженные отличия в способности образования биопленок среди *Candida non-albicans* и *C. albicans* были выявлены при выделении их от больных опухолями системы крови и составили 56,6% против 18,2%, а при исследовании изолятов из гемокультуры — 55,3% против 17,2%, $p < 0,001$ соответственно (рисунок 2 Б). Среди изолятов, выделенных из других клинически значимых образцов, отличий не было получено, вероятно, по причине небольшого числа исследуемых *Candida* spp. В группе больных без опухолей системы крови различия в частоте образования биопленок между *Candida non-albicans* и *C. albicans* были определены лишь среди изолятов, полученных из гемокультуры, и эти отличия были не столь выражены как в группе сравнения (50,4% против 35,6% соответственно, $p = 0,04$), рисунок 2 В.

Во все анализируемые временные периоды образование биопленок преобладало у *Candida non-albicans* в сравнении с *C. albicans* (рис. 3). Значимое увеличение продукции биопленок с 45 до 60% среди *Candida non-albicans* было отмечено в период с 2005 по 2017 г. ($p = 0,001$). Доля *C. albicans* в составе биопленок за этот период также возросла, но в меньшей степени: с 19% (2005–2007 гг.) до 29% (2016–2017 гг., $p > 0,05$). В 2010–2011 гг. частота образования биопленок среди *Candida non-albicans* и *C. albicans* также была высокой, как в последний период исследования (2016–2017 гг.), и составила 60 и 37% соответственно. При анализе видового распределения *Candida* spp. и частоты детекции продукции биопленок в исследуемые временные промежутки не было выявлено отличий. Возможно, регистрируемый всплеск

продукции биопленок в 2010–2011 гг. был обусловлен использованием у больных в эти годы инвазивных устройств, к которым *Candida* spp. проявляют большую тропность, или более тяжелой когортой больных с инвазивным кандидозом.

Исследуемые виды *Candida* имели разную способность к формированию биопленок (рис. 4). Образование биопленок определялось значимо чаще среди *C. tropicalis* (89,5%, 34 из 38) и *C. krusei* (75%, 30 из 40) в сравнении с *C. parapsilosis* complex (41,3%, 50 из 121), *C. albicans* (28,6%, 55 из 192) и *C. glabrata* (27%, 10 из 37), $p < 0,05$. Продукция биопленок была минимальной у *C. albicans* (28,6%) и *C. glabrata* (27%).

Продукция биопленок была сопоставимо высокой в анализируемых группах для *C. tropicalis* и *C. krusei*, ниже для *C. parapsilosis* complex и *C. glabrata* (рис. 5). Отличия в группах больных с инвазивным кандидозом по способности формирования биопленок были выявлены для *C. albicans*. Образование биопленок достоверно чаще было определено для *C. albicans*, выделенных от больных без опухолей системы крови и составило 34% против 18,2% в группе сравнения ($p = 0,03$).

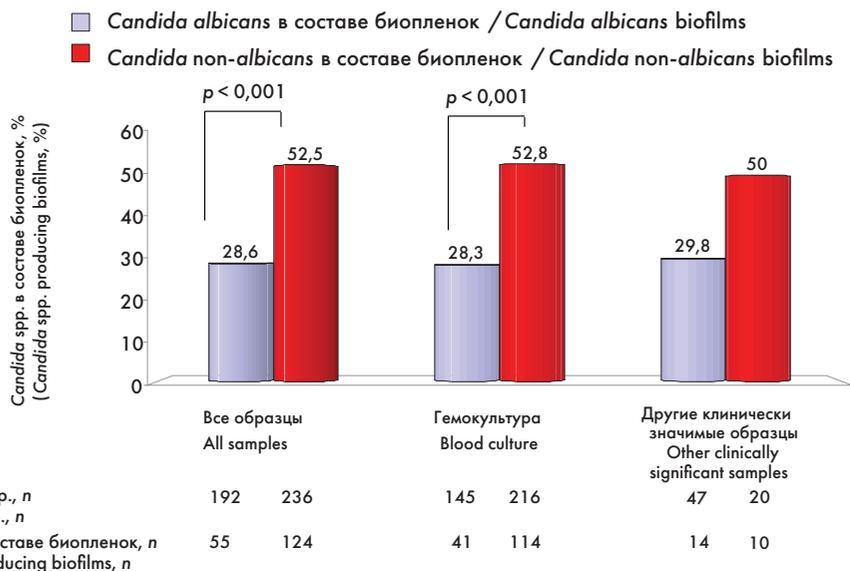
Обсуждение

Для возбудителей инвазивного кандидоза характерным является наличие факторов патогенности. Наиболее значимыми из них являются адгезины, благодаря которым происходит прикрепление *Candida* spp. к инвазивным устройствам и клеткам макроорганизма, наличие ферментов агрессии, таких как протеазы, липазы, присутствие морфологической гетерогенности, которая выражается в формировании дрожжевых клеток и псевдомицелия, а также способность к образованию биопленок на поверхностях инородных устройств и слизистых оболочек.

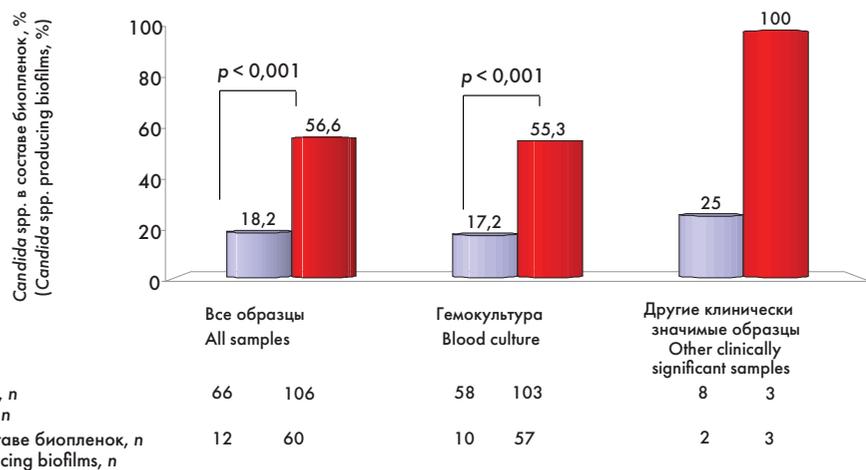
В настоящей работе частота детекции биопленок среди изолятов *Candida* spp., выделенных из клинически значимых образцов, составила 41,8%. По результатам разных исследователей этот показатель был переменным. В исследовании ученых из Швеции продукция биопленок среди *Candida* spp., выделенных из гемокультуры, была определена у 58,8% (231 из 393) изолятов; в исследовании из Турции — только у 20,2% (20 из 99) [9, 10].

Одинаковая частота выделения *Candida* spp. в составе биопленок была получена от больных опухолями системы крови и больных без опухолей системы крови и составила 41,9 и 41,8% соответственно. Основная доля больных без опухолей системы крови (85%) находилась в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Сопоставимо высокая частота образования биопленок среди *Candida* spp. может быть связана с частым использованием инвазивных медицинских устройств в обеих группах больных. Полученные в настоящем исследовании данные подтверждены результатами

A



Б



В

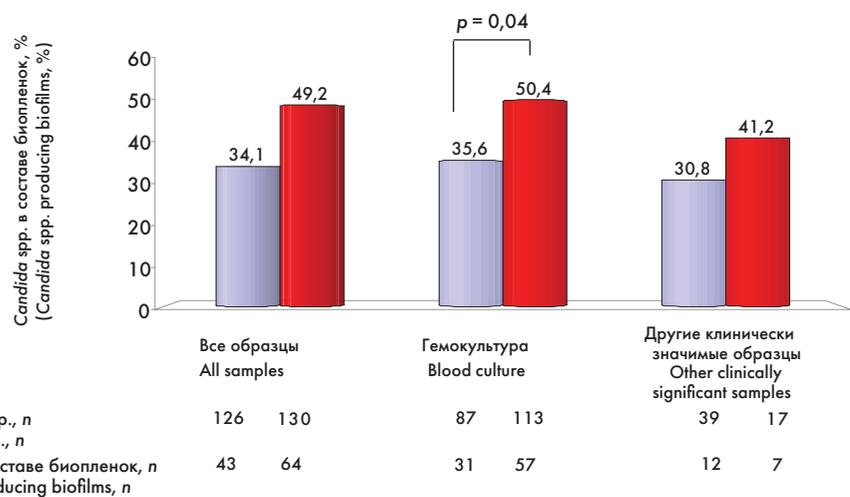


Рисунок 2. Частота образования биопленок среди *C. albicans* и *Candida non-albicans*: А — *Candida* spp., выделенные от всех больных; Б — *Candida* spp., выделенные от больных опухолями системы крови; В — *Candida* spp., выделенные от больных без опухолей системы крови

Figure 2. Incidence of biofilm formation among *C. albicans* and *Candida non-albicans*: А — *Candida* spp. isolated from all patients; Б — *Candida* spp. isolated from patients with hematological malignancies; В — *Candida* spp. isolated from patients without hematological malignancies

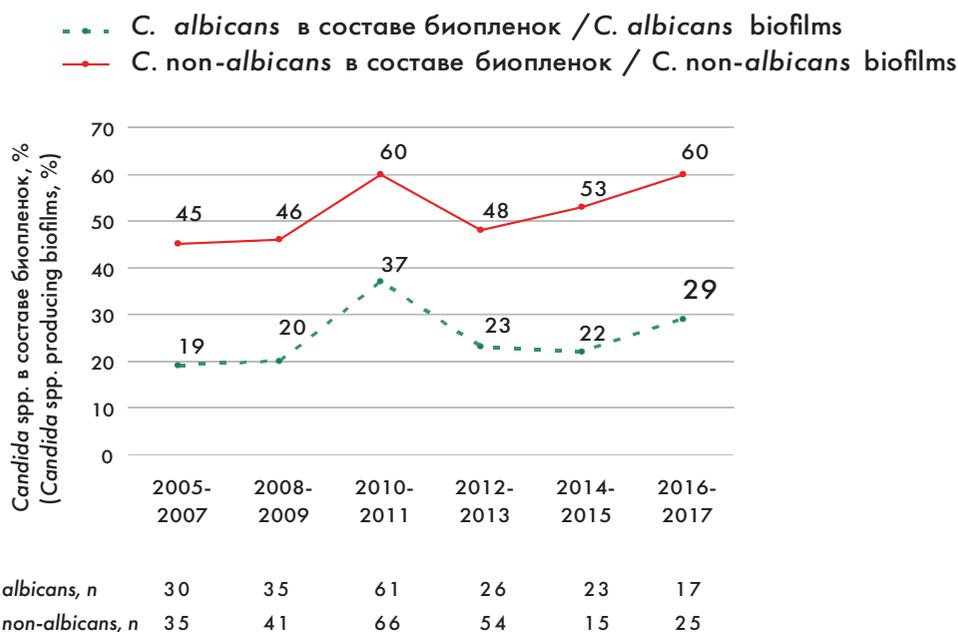


Рисунок 3. Способность к формированию биопленок среди *C. albicans* и *Candida non-albicans* в разные временные периоды
Figure 3. Biofilm-forming ability among *C. albicans* and *Candida non-albicans* at various periods

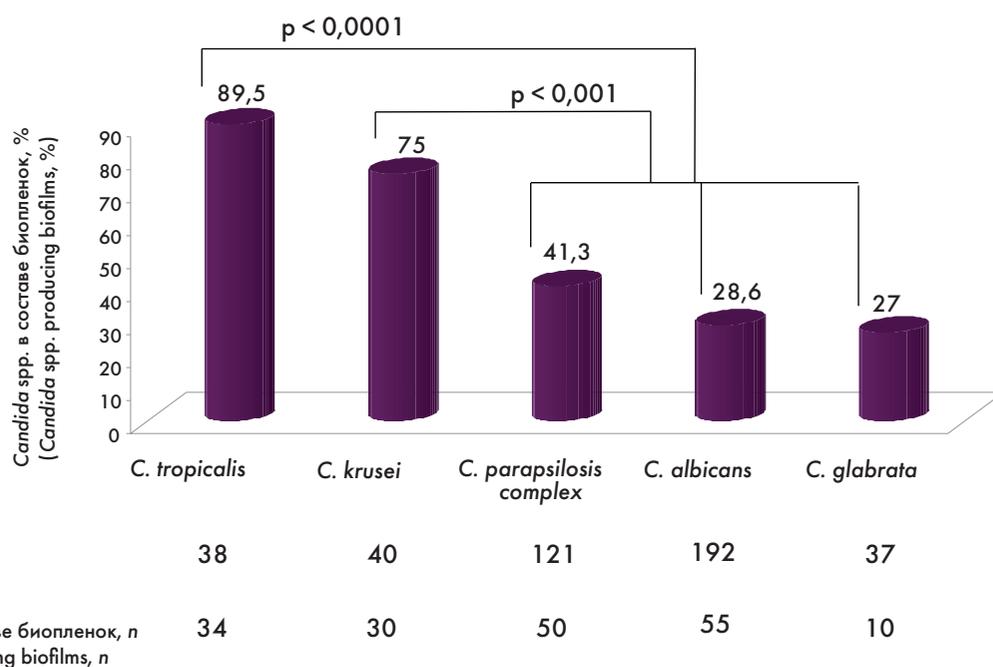


Рисунок 4. Частота образования биопленок среди разных видов *Candida*
Figure 4. Biofilm production among different species of *Candida*

других исследователей, в которых доля *Candida* spp. в составе биопленок, выделенных от больных опухолями системы крови, составила 46% ($n = 43$), этот показатель был несколько выше от больных из отделений реанимации и достигал 58% [11, 12].

Продукция биопленок среди *Candida* spp., выделенных из гемокультуры, была выше и составила 42,9% против 35,8% среди изолятов, полученных из других клинически значимых образцов, но отличия были недостоверными ($p > 0,05$). Опубликованные

результаты исследований по изучению способности к формированию биопленок среди *Candida* spp., как вызывающих инвазивный кандидоз, так и колонизирующих слизистые оболочки макроорганизма, оказались неоднородными. Продукция биопленок была изучена среди *Candida* spp., выделенных из гемокультуры ($n = 101$), мочи ($n = 97$), респираторного тракта ($n = 89$), ран ($n = 41$), асцитической жидкости ($n = 12$) и других образцов ($n = 20$) [13]. Было показано, что *Candida* spp., выделенные из гемокультуры, чаще образовывали

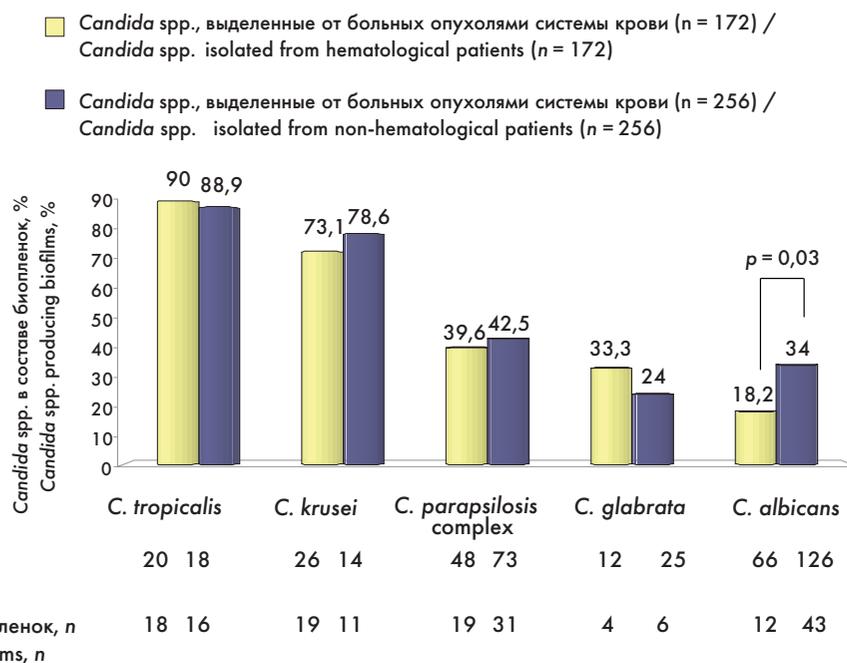


Рисунок 5. Способность к формированию биопленок среди разных видов *Candida* spp., выделенных от больных опухолями системы крови и от больных без опухолей системы крови

Figure 5. Biofilm-forming ability among different species of *Candida*, isolated from patients with hematological malignancies and patients without hematological malignancies

био пленки в сравнении с изолятами из других образцов (57% против 32% соответственно, $p < 0,0001$). Другими исследователями была отмечена высокая частота формирования биопленок среди *Candida* spp., выделенных из гемокультуры (83,3%) и со слизистой оболочки ротоглотки (81,8%) [14].

Изоляты *Candida* non-*albicans* статистически значимо чаще образовывали биопленки в сравнении с *C. albicans* (52,5% против 28,6%, $p < 0,001$). Согласно данным других авторов, частота формирования биопленок среди *Candida* non-*albicans*, выделенных из гемокультуры, была также выше и варьировала от 54 до 77%, в то время как этот показатель среди *C. albicans* составлял от 26,7 до 30,6% ($p < 0,05$) [6, 11, 15].

Основными продуцентами биопленок были изоляты *C. tropicalis* (89,5%) и *C. krusei* (75%), реже — *C. albicans* (28,6%) и *C. glabrata* (27%). Сопоставимые результаты были получены в других работах, согласно которым частота детекции биопленок среди *C. tropicalis* и *C. krusei* также была высокой, и в некоторых исследованиях этот показатель достигал 100% [9, 16]. Варибельные данные о способности к формированию биопленок были выявлены среди *C. glabrata* и *C. albicans* и варьировали у каждого из этих видов от 8 до 95% [9, 13].

Учитывая неоднородные данные о продукции биопленок среди разных видов *Candida*, можно полагать, что на этот процесс оказывают влияние не только наличие инвазивного устройства в макроорганизме, но и другие факторы, например материал, из которого они изготовлены, и длительность их использования [17]. В экспериментальных исследованиях было доказано,

что образование биопленок среди *C. albicans* чаще было на латексе и реже — на полиуретане и силиконе [18, 19]. В другой работе было показано, что *C. parapsilosis*, *C. albicans* и *C. krusei* обладали большей способностью к формированию биопленок на тефлоне, в то время как *C. glabrata* — на поливинилхлориде, а *C. tropicalis* — на полиуретане [20]. Авторы полагают, что на частоту образования биопленок среди *Candida* spp. может влиять и структура поверхности инвазивного устройства [18].

Различия в способности к формированию биопленок среди разных видов *Candida* могут быть обусловлены неоднородностью используемых методик ввиду присутствия отличий в используемой питательной среде для инкубации, а также в качестве применяемых планшет [17, 20–22].

Таким образом, формирование биопленок было выявлено у 41,8% возбудителей инвазивного кандидоза с одинаковой частотой у больных опухолями и без опухолей системы крови. Образование биопленок значимо чаще преобладало среди *C. tropicalis* (89,5%) и *C. krusei* (75%) в сравнении с *C. parapsilosis* complex (41,3%), *C. albicans* (28,6%) и *C. glabrata* (27%, $p < 0,05$). Отличия в группах больных с инвазивным кандидозом по способности формирования биопленок были выявлены для *C. albicans*. Образование биопленок достоверно чаще было определено для *C. albicans*, выделенных от больных без опухолей системы крови, и составило 34% против 18,2% в группе сравнения ($p = 0,03$). Полученные результаты подтверждают необходимость удаления центрального венозного катетера у больных инвазивным кандидозом, особенно при повторном выделении *Candida* spp. из гемокультуры.

Литература

1. Клясова Г.А., Мальчикова А.О., Тандилова К.С. и др. Лечение кандидемий, вызванных *Candida albicans* и *Candida non-albicans*, у больных с опухолями системы крови. Терапевтический архив. 2019; 91(8): 84–92. DOI: 10.26442/00403660.2019.08.000385.
2. Tumbarello M., Fiori B., Trecarichi E.M. et al. Risk factors and outcomes of candidemia caused by biofilm-forming isolates in a tertiary care hospital. PloS One. 2012; 7(3): e33705. DOI: 10.1371/journal.pone.0033705.
3. Клясова Г.А. Антимикробная терапия. В кн.: Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2012. С. 827–54.
4. Клясова Г.А., Сперанская Л.Л., Миронова А.В. и др. Возбудители сепсиса у иммунокомпрометированных больных: структура и проблемы антибиотикорезистентности (результаты многоцентрового исследования). Гематология и трансфузиология. 2007; 52(1): 11–8.
5. Puerta-Alcalde P., Cardozo C., Marco F. et al. Changing epidemiology of bloodstream infection in a 25-years hematopoietic stem cell transplant program: current challenges and pitfalls on empiric antibiotic treatment impacting outcomes. Bone Marrow Transplant. 2020; 55: 603–12. DOI:10.1038/s41409-019-0701-3.
6. Tumbarello M., Posteraro B., Trecarichi E.M. et al. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. JCM. 2007; 45(6): 1843–50. DOI: 10.1128/JCM.00131-07.
7. Tascini C., Sozio E., Corte L. et al. The role of biofilm forming on mortality in patients with candidemia: a study derived from real world data. Infect Dis. 2018; 50(3): 214–19. DOI: 10.1080/23744235.2017.1384956.
8. Pierce C. G., Uppuluri P., Tristan A.R. et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. Nat protoc. 2008; 3(9): 1494–500. DOI: 10.1038/nprot.2008.141.
9. Pannanusorn S., Fernandez V., Römling U. Prevalence of biofilm formation in clinical isolates of *Candida* species causing bloodstream infection. Mycoses. 2013; 56(3): 264–72. DOI: 10.1111/myc.12014.
10. Gokce G., Cerikcioglu N., Yagci A. Acid proteinase, phospholipase, and biofilm production of *Candida* species isolated from blood cultures. Mycopathologia. 2007; 164(6): 265–9. DOI:10.1007/s11046-007-9053-4.
11. Pongrácz J., Benedek K., Juhász E. et al. In vitro biofilm production of *Candida* bloodstream isolates: any association with clinical characteristics? J Med Microbiol. 2016; 65(4): 272–7. DOI: 10.1099/jmm.0.000207.
12. Gangneux J.P., Cornet M., Bailly S. et al. Clinical impact of antifungal susceptibility, biofilm formation and mannoside expression of *Candida* yeasts on the outcome of invasive candidiasis in ICU: an ancillary study on the prospective AmarCAND2 cohort. Front Microbiol. 2018; 9: 2907. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02907.
13. Shin J.H., Kee S.J., Shin M.G. et al. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. J Clin Microbiol. 2002; 40(4): 1244–8. DOI: 10.1128/jcm.40.4.1244-1248.2002.
14. Girish Kumar C. P., Menon T. Biofilm production by clinical isolates of *Candida* species. Med Mycol. 2006; 44(1): 99–101. DOI: 10.1080/13693780500338084.
15. Arora S., Dhuria N., Jindal N. et al. Speciation, biofilm formation and antifungal susceptibility of *Candida* isolates. Int J Res Dev Pharm L Sci. 2017; 6: 2517–21. DOI: 10.21276/IJRDP. 2278-0238.2017.6(2).2517-2521.

References

1. Klyasova G.A., Malchikova A.O., Tandilova K.S. et al. Treatment of candidemia caused by *Candida albicans* and *Candida non-albicans* in patients with hematological malignancies. Terapevticheskiy Arkhiv. 2019; 91 (8): 84–92. DOI: 10.26442/00403660.2019.08.000385 (In Russian).
2. Tumbarello M., Fiori B., Trecarichi E.M. et al. Risk factors and outcomes of candidemia caused by biofilm-forming isolates in a tertiary care hospital. PloS One. 2012; 7(3): e33705. DOI: 10.1371/journal.pone.0033705.
3. Klyasova G.A. Antimicrobial therapy. In: Program treatment of blood system diseases. Ed. V.G. Savchenko. Moscow: Praktika; 2012. P. 829–53. (In Russian).
4. Klyasova G., Speranskaya L., Mironova A. et al. The pathogens causing sepsis in immunocompromised patients: structure and problems of antibiotic resistance. Results of multi-center cooperative study. Gematologiya i Transfusiologiya. 2007; 52(1): 11–8. (In Russian).
5. Puerta-Alcalde P., Cardozo C., Marco F. et al. Changing epidemiology of bloodstream infection in a 25-years hematopoietic stem cell transplant program: current challenges and pitfalls on empiric antibiotic treatment impacting outcomes. Bone Marrow Transplant. 2020; 55: 603–612. DOI:10.1038/s41409-019-0701-3.
6. Tumbarello M., Posteraro B., Trecarichi E.M. et al. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. JCM. 2007; 45(6): 1843–50. DOI: 10.1128/JCM.00131-07.
7. Tascini C., Sozio E., Corte L. et al. The role of biofilm forming on mortality in patients with candidemia: a study derived from real world data. Infect Dis. 2018; 50(3): 214–9. DOI: 10.1080/23744235.2017.1384956.
8. Pierce C.G., Uppuluri P., Tristan A.R. et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. Nat protoc. 2008; 3(9): 1494–500. DOI: 10.1038/nprot.2008.141.
9. Pannanusorn S., Fernandez V., Römling U. Prevalence of biofilm formation in clinical isolates of *Candida* species causing bloodstream infection. Mycoses. 2013; 56(3): 264–72. DOI: 10.1111/myc.12014.
10. Gokce G., Cerikcioglu N., Yagci A. Acid proteinase, phospholipase, and biofilm production of *Candida* species isolated from blood cultures. Mycopathologia. 2007; 164(6): 265–9. DOI:10.1007/s11046-007-9053-4.
11. Pongrácz J., Benedek K., Juhász E. et al. In vitro biofilm production of *Candida* bloodstream isolates: any association with clinical characteristics? J Med Microbiol. 2016; 65(4): 272–7. DOI: 10.1099/jmm.0.000207.
12. Gangneux J. P., Cornet M., Bailly S. et al. Clinical impact of antifungal susceptibility, biofilm formation and mannoside expression of *Candida* yeasts on the outcome of invasive candidiasis in ICU: an ancillary study on the prospective AmarCAND2 cohort. Front Microbiol. 2018; 9: 2907. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02907.
13. Shin J.H., Kee S.J., Shin M.G. et al. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. J Clin Microbiol. 2002; 40(4): 1244–8. DOI: 10.1128/jcm.40.4.1244-1248.2002.
14. Kumar C.P., Menon T. Biofilm production by clinical isolates of *Candida* species. Med Mycol. 2006; 44(1): 99–101. DOI: 10.1080/13693780500338084.
15. Arora S., Dhuria N., Jindal N. et al. Speciation, biofilm formation and antifungal susceptibility of *Candida* isolates. Int J Res Dev Pharm L Sci. 2017; 6: 2517–21. DOI: 10.21276/IJRDP. 2278-0238.2017.6(2).2517-2521.

16. Sida H., Shah P., Pethani J. et al. Study of biofilm formation as a virulence marker in *Candida* species isolated from various clinical specimens. *Int J Med Sci Public Health*. 2016; 5(5): 842–6. DOI:10.5455/ijmsph.2016.24082015139.
17. Jain N., Kohli R., Cook E. et al. Biofilm formation by and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from urine. *Appl Environ Microbiol*. 2007; 73(6): 1697–703. DOI: 10.1128/AEM.02439-06.
18. Hawser S.P., Douglas L.J. Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infect Immun*. 1994; 62(3): 915–21. DOI: 10.1128/IAI.62.3.915-921.1994.
19. Radford D.R., Sweet S.P., Challacombe S.J., Walter J.D. Adherence of *Candida albicans* to denture-base materials with different surface finishes. *J Dent*. 1998; 26(7): 577–83. DOI: 10.1016/s0300-5712(97)00034-1.
20. Estivill D., Arias A., Torres-Lana A. et al. Biofilm formation by five species of *Candida* on three clinical materials. *J Microbiol Methods*. 2011; 86(2): 238–42. DOI: 10.1016/j.mimet.2011.05.019.
21. Krom B.P., Cohen J.B., Feser G.E.M., Cihlar R.L. Optimized candidal biofilm microtiter assay. *J Microbiol Methods*. 2007; 68(2): 421–3. DOI: 10.1016/j.mimet.2006.08.003.
22. Frade J.P., Arthington-Skaggs B.A. Effect of serum and surface characteristics on *Candida albicans* biofilm formation. *Mycoses*. 2011; 54(4): 154–62. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2010.01862.x.

Информация об авторах

Мальчикова Анна Олеговна*, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: anmalchikova@gmail.com;
125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8725-5131>

Клясова Галина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: klyasova.g@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 31.01.2020

Принята к печати: 27.07.2020

16. Sida H., Shah P., Pethani J. et al. Study of biofilm formation as a virulence marker in *Candida* species isolated from various clinical specimens. *Int J Med Sci Public Health*. 2016; 5(5): 842–6. DOI:10.5455/ijmsph.2016.24082015139.
17. Jain N., Kohli R., Cook E. et al. Biofilm formation by and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from urine. *Appl Environ Microbiol*. 2007; 73(6): 1697–703. DOI: 10.1128/AEM.02439-06.
18. Hawser S.P., Douglas L.J. Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infect Immun*. 1994; 62(3): 915–21. DOI: 10.1128/IAI.62.3.915-921.1994.
19. Radford D.R., Sweet S.P., Challacombe S.J., Walter J.D. Adherence of *Candida albicans* to denture-base materials with different surface finishes. *J Dent*. 1998; 26(7): 577–83. DOI: 10.1016/s0300-5712(97)00034-1.
20. Estivill D., Arias A., Torres-Lana A. et al. Biofilm formation by five species of *Candida* on three clinical materials. *J Microbiol Methods*. 2011; 86(2): 238–42. DOI: 10.1016/j.mimet.2011.05.019.
21. Krom B.P., Cohen J.B., Feser G.E.M., Cihlar R.L. Optimized candidal biofilm microtiter assay. *J Microbiol Methods*. 2007; 68(2): 421–3. DOI: 10.1016/j.mimet.2006.08.003.
22. Frade J.P., Arthington-Skaggs B.A. Effect of serum and surface characteristics on *Candida albicans* biofilm formation. *Mycoses*. 2011; 54(4): 154–62. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2010.01862.x.

Information about the authors

Anna O. Malchikova*, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Clinical Microbiology, Mycology and Antibiotic Therapy National Research Center for Hematology,
e-mail: anmalchikova@gmail.com;
125167, Moscow, Novy Zykovsky proezd, 4
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8725-5131>

Galina A. Klyasova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Laboratory of Clinical Microbiology, Mycology and Antibiotic Therapy National Research Center for Hematology,
e-mail: klyasova.g@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

* Corresponding author

Received 31 Jan 2020

Accepted 27 Jul 2020

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Логинова М. А.^{*}, Малышева Н. А., Минаева Н. В., Парамонов И. В.

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», 610027, Киров, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Одной из проблем обеспечения российских трансплантационных центров неродственными гемопоэтическими стволовыми клетками (ГСК) является отсутствие схемы взаимодействия «регистр — центр заготовки ГСК — трансплантационный центр». Для обеспечения эффективной работы на этапе активации донора регистром необходимо отрегулированное сотрудничество с центром заготовки ГСК с распределением обязанностей и ответственности сторон.

Цель: оценить эффективность деятельности Кировского регистра потенциальных доноров ГСК.

Материалы и методы. В работу включены результаты работы Кировского регистра за 2009–2019 гг. с донорами ГСК. На 25.11.2019 число доноров составило 46 922, из них 43 % мужчин, 57 % женщин; 49 % — кадровые доноры, 51 % — добровольцы с донорских акций, с 2013 г. регистр имеет собственный центр заготовки клеточного материала. Эффективность регистра оценивали по показателям: число донаций, время активации доноров, количество отказов на этапах предварительной активации и донации клеточного материала.

Результаты. По состоянию на 25.11.2019, выполнено более 1000 предварительных активаций потенциальных доноров ГСК, из которых 175 завершились заготовкой ГСК. Использование созданной и отработанной модели активации с участием регистра и центра заготовки на сегодняшний день обеспечивает следующие сроки выполнения активации: срок отправки образца на подтверждающее HLA-типирование не превышает 14 дней; общее время удовлетворения запроса трансплантационного центра на клеточный материал не превышает 2 мес. Проведен подробный анализ причин отказов на этапах предварительной активации и после получения запроса на заготовку клеточного материала.

Заключение. За период с 2009 г. по 2019 г. сложилась модель эффективной работы с донорами ГСК на всех этапах цепочки «регистр — центр заготовки ГСК — трансплантационный центр». Эффективность работы подтверждена востребованностью донорских ресурсов, соблюдением сроков активации и относительно невысоким процентом отказов от донации.

Ключевые слова: гемопоэтические стволовые клетки, донор, активация, регистр, отказ от донации

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Логинова М.А., Малышева Н.А., Минаева Н.В., Парамонов И.В. Оценка эффективности деятельности регистра потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(3): 291–298. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-291-298>

EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF THE ACTIVITY OF THE REGISTER OF POTENTIAL DONORS OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS

Loginova M. A., Malysheva N. A., Minaeva N. V., Paramonov I. V.

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, 610027, Kirov, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. One of the problems in providing Russian transplant clinics with unrelated hematopoietic stem cells (HSCs) is the lack of an interaction scheme “Registry — HSC collection center — Transplant center”. In order to ensure effective operation at the donor activation stage, registries need regulated and stable cooperation with the Collection center with a clear distribution of duties and responsibilities for both parties.

Aim: to evaluate the effectiveness of the Kirov Registry.

Materials and methods. Since 2009, the Kirov Registry has been systematically working with HSC donors (as of 25/11/2019, the total number of donors was 46,922, of which 43 % male, 57 % female; 49 % regular blood donors, 51 % volunteers from donor actions) since 2013. The Registry has its own Collection Center. The effectiveness of the Registry was evaluated by indicators: the number of donations, donor activation time, the number of refusals at the stages of preliminary activation and donation of cellular material.

Results. As of 25/11/2019, more than 1,000 preliminary activations of potential HSC donors were performed, of which 175 were completed by collection of HSCs. The use of the created and validated activation model with the employment of the Registry and the Collection Center currently provides the following activation times: the period for sending a sample for confirming HLA typing does not exceed 14 days; the total time to satisfy the transplant center request for cellular material does not exceed 2 months. A detailed analysis of the causes of refusals at the stages of preliminary activation and after receiving a request for the collection of cell material was carried out.

Conclusion. Between 2009 and 2019 the Kirov registry has developed a model of effective work with the donors of the HSCs at all stages of the chain “Registry — HSC collection center — Transplant center”. The effectiveness of the work is confirmed by the demand for donors, observance of the donor activation time, and a relatively low percentage of refusals from donations.

Keywords: hematopoietic stem cells, donor, activation, register, refusal of donation

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Loginova M.A., Malysheva N.A., Minaeva N.V., Paramonov I.V. Evaluation of the efficiency of the activity of the register of potential donors of hematopoietic stem cells. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2020; 65(3): 291–298 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-291-298>

Введение

В настоящее время в объединенной базе данных российских доноров BMDS (Bone Marrow Donor Search) зарегистрировано 94 011 человек, входящих в состав 15 локальных регистров, расположенных в 11 субъектах Российской Федерации [1]. За четыре года существования BMDS безвозмездные доноры обеспечили более 387 трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) российским больным [1].

В последние годы наметился прогресс в использовании BMDS отечественными трансплантационными центрами для поиска совместимого донора ГСК, однако многие российские больные по-прежнему зависят от донорского материала, получаемого из-за рубежа, либо для них невозможно подобрать совместимого неродственного донора [1–3].

Установлено, что распределение HLA-аллелей и гаплотипов отличается у различных этносов [4]. Это обуславливает необходимость рекрутирования новых потенциальных доноров ГСК во всех субъектах РФ в целях увеличения генетического разнообразия донорских ресурсов, доступных для поиска неродственных доноров.

Проблемой обеспечения российских трансплантационных центров неродственными ГСК является отсутствие отработанной схемы взаимодействия «регистр — центр заготовки ГСК — трансплантационный центр». Для обеспечения эффективной работы на этапе активации донора регистрам необходимо отрегулированное, стабильное сотрудничество с центром заготовки ГСК с четким распределением обязанностей и ответственности сторон.

Проведен анализ деятельности самого большого локального российского регистра потенциальных доноров ГСК — регистра, функционирующего на базе ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови

Федерального медико-биологического агентства» (далее КНИИГиПК).

Цель работы — оценить эффективность деятельности Кировского регистра потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток.

Материалы и методы

В КНИИГиПК ведется систематическая работа по рекрутированию и HLA-типированию потенциальных доноров ГСК с 2009 г. Прием и обработка заявок от трансплантационных центров на поиск доноров, активация доноров и работы по заготовке и транспортировке ГСК выполняются с 2012 г. [5]. Характеристика донорских ресурсов регистра КНИИГиПК представлена на рисунках 1 и 2.

Углубленное обследование потенциальных доноров и заготовка ГСК осуществляются в центре заготовки ГСК, действующем в КНИИГиПК на функциональной основе. Процесс активации донора можно условно разделить на два основных этапа (рис. 3): предварительная активация, в ходе которой регистр обрабатывает запрос на получение образца биоматериала донора для проведения подтверждающего типирования, и собственно активация, которая завершается заготовкой клеточного материала.

Предварительная активация выполняется сотрудниками регистра, все остальные стадии относятся к сфере ответственности центра заготовки. Общую координацию работы осуществляет сотрудник регистра.

Результаты

Ключевым показателем результативности работы регистра является количество выполненных донаций. По состоянию на 25.11.2019, доноры регистра осуществили 175 донаций ГСК (73 — от кадровых доноров крови и ее компонентов, 102 — от добровольцев, при-

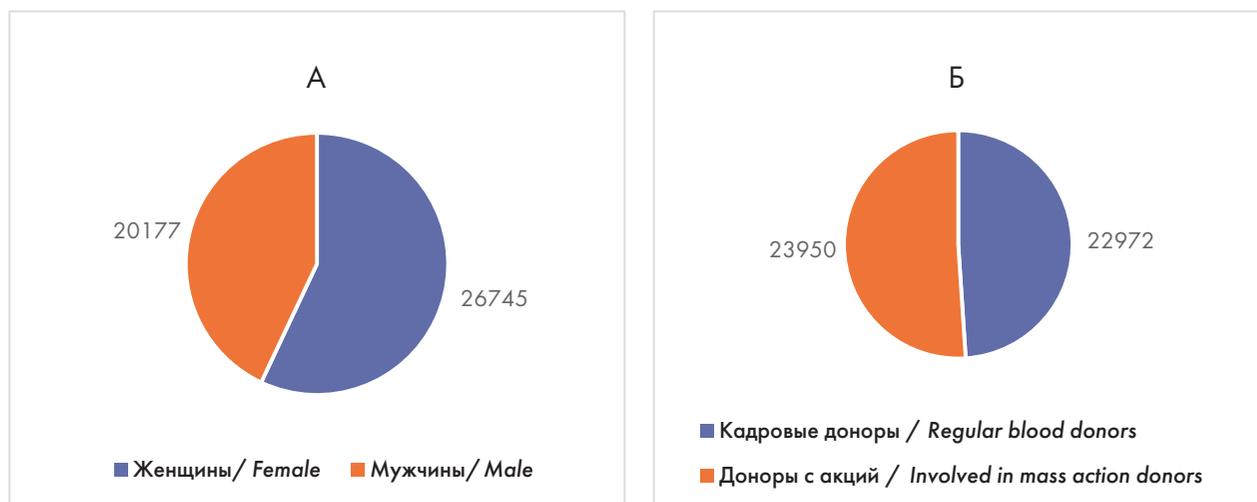


Рисунок 1. Характеристика донорских ресурсов регистра КНИИГиПК: А — по полу; Б — по способу привлечения
Figure 1. Description of the donor resources of the register KSRIH&BT: A — by gender; Б — by the method of recruitment

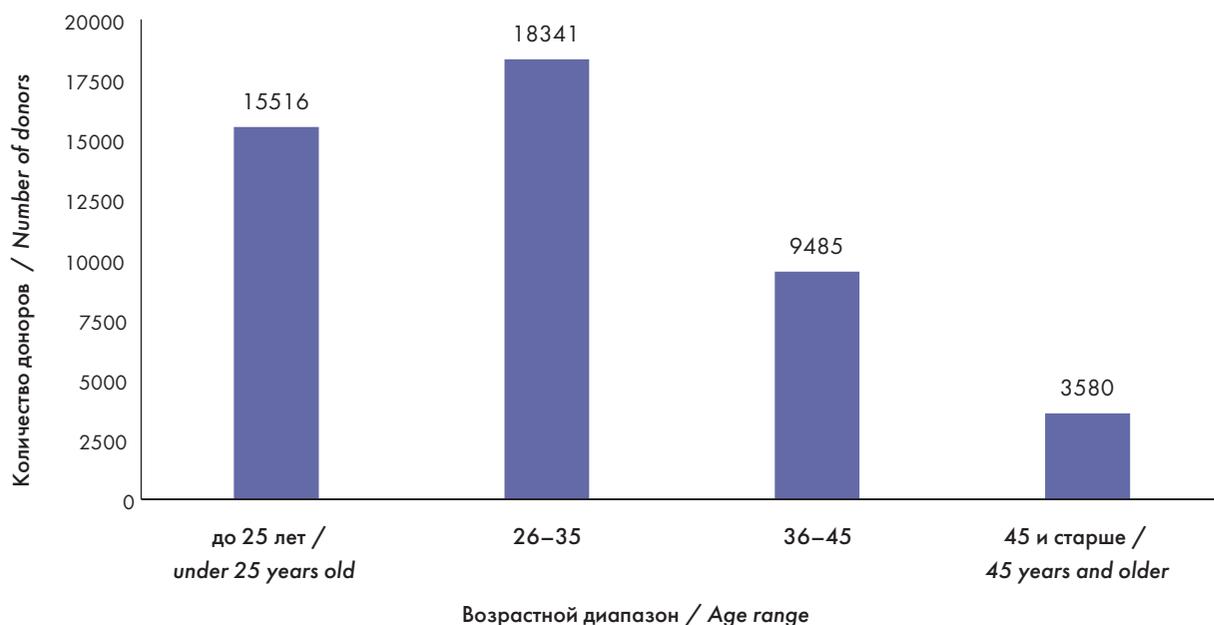


Рисунок 2. Характеристика донорских ресурсов регистра КНИИГиПК по возрасту
Figure 2. Characterization of the donor resources of the register KSRIH&BT by age

влеченных в ходе массовых акций). Динамика заготовки ГСК в 2013–2019 гг. представлена на рисунке 4.

Ежегодно количество состоявшихся заготовок трансплантата от доноров из регистра увеличивается (рис. 4). Резкое увеличение количества заготовок клеточного материала в 2015 г. обусловлено не только вступлением регистра в российский поисковый ресурс BMDS, благодаря чему генотипы доноров КНИИГиПК стали доступны для поиска совместимого донора всем трансплантационным центрам, зарегистрированным в системе, но и формированием четкой модели активации, включающей в себя все этапы, приведенные на рисунке 3.

В центре заготовки ГСК КНИИГиПК было выполнено 168 (96%) донаций, остальные 7 (4%) — осуществлены в кооперации с центрами заготовки ГСК других учреждений.

Использование разработанной в КНИИГиПК модели активации донора обеспечивает сроки выполнения активации, соответствующие общеевропейской практике: срок отправки образца на подтверждающее HLA-типирование составляет 3–5 дней для образцов от доноров, проживающих на территории Кировской области, и не превышают 14 дней, если донор проживает в другом регионе РФ; общее время удовлетворения запроса трансплантационного центра на заготовку клеточного материала не превышает 2 мес.

Количество успешно проведенных предварительных активаций характеризует эффективность выбора целевой аудитории для рекрутирования в потенциальные доноры ГСК. За период с января 2010 г. по ноябрь 2019 г. регистром КНИИГиПК получено 1477 запросов на отправку образцов биоматериала для проведения подтверждающего HLA-типирования. 26 запросов (1,76%)

отозвано трансплантационными центрами до момента начала предварительной активации; 1012 запросов (68,50%) завершены отправкой образцов биоматериала; 439 (29,74%) — не реализованы. Распределение нереализованных предварительных активаций по причинам и категориям доноров представлено на рисунке 5.

Анализ данных (рис. 5) показал, что максимальное количество нереализованных предварительных активаций связано с невозможностью установления контакта с потенциальным донором (48,0%) и с отводами от донорства по медицинским показаниям (16,4%). Количество нереализованных предварительных активаций по всем причинам оказалось существенно выше в категории добровольцев, привлеченных на донорских акциях, чем у доноров ГСК, рекрутированных из числа кадровых доноров крови и ее компонентов. Полученные данные свидетельствуют о преимуществе кадровых доноров крови и ее компонентов при рекрутировании в регистр. Для этой группы доноров характерны высокая вероятность нахождения добровольца в случае активации, возможность своевременного выявления противопоказаний к донорству за счет регулярных обследований на гемотрансмиссивные инфекции, высокая психологическая готовность к процедуре цитафереза. Большая часть отводов от донорства по медицинским показаниям в категории кадровых доноров крови и ее компонентов носит временный характер (беременность или ее планирование, период лактации, аппендэктомия, перелом конечностей), постоянные же запреты выявлены у доноров, утративших на момент запроса статус кадровых.

Еще одним показателем эффективности работы регистра является количество отказов от донации. Всего с апреля 2013 г. по ноябрь 2019 г. регистром КНИИГиПК

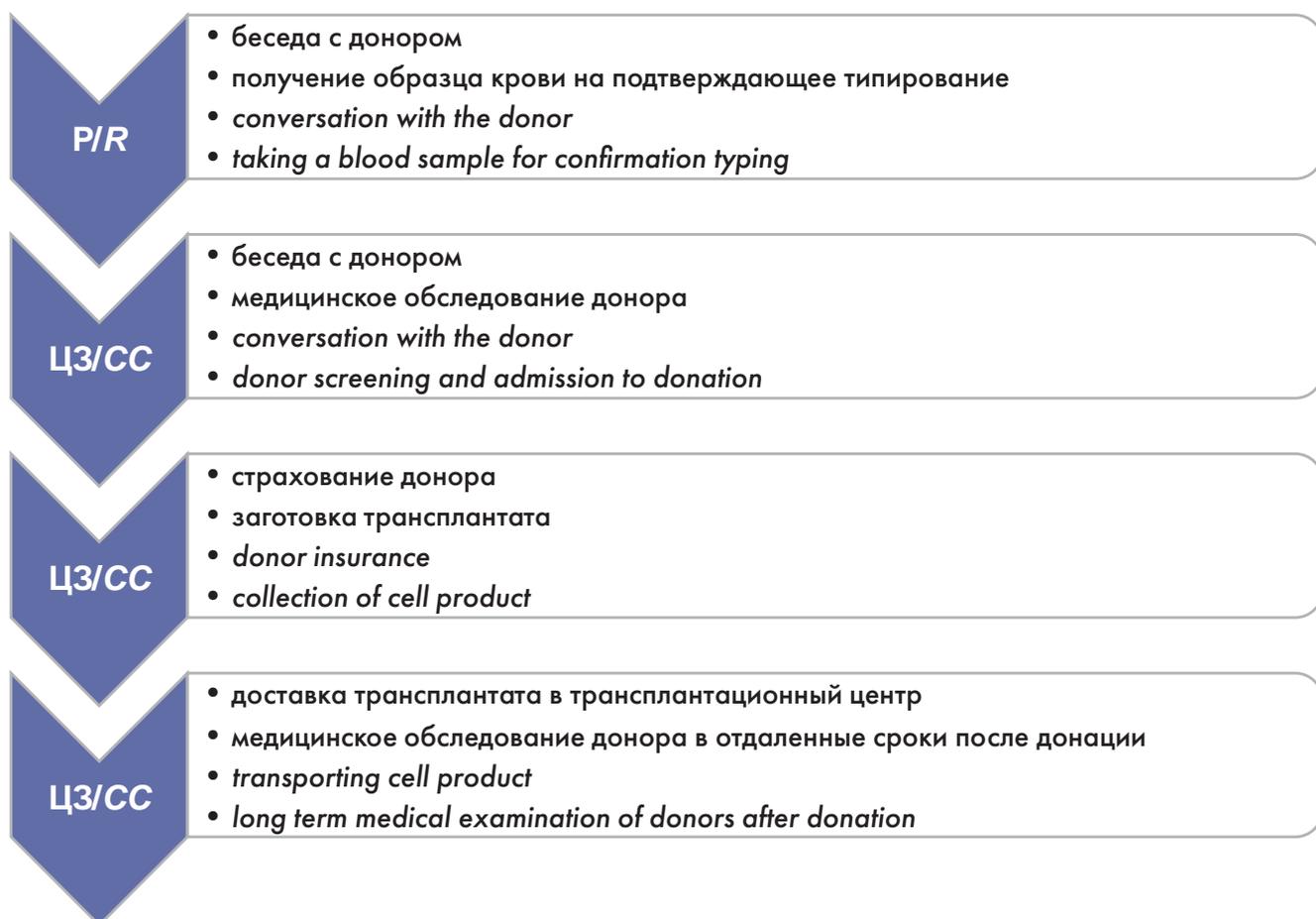


Рисунок 3. Схема активации потенциального донора ГСК (P — регистр, ЦЗ — центр заготовки)

Figure 3. Activation scheme of a potential HSC donor (R — register, CC — collection center)

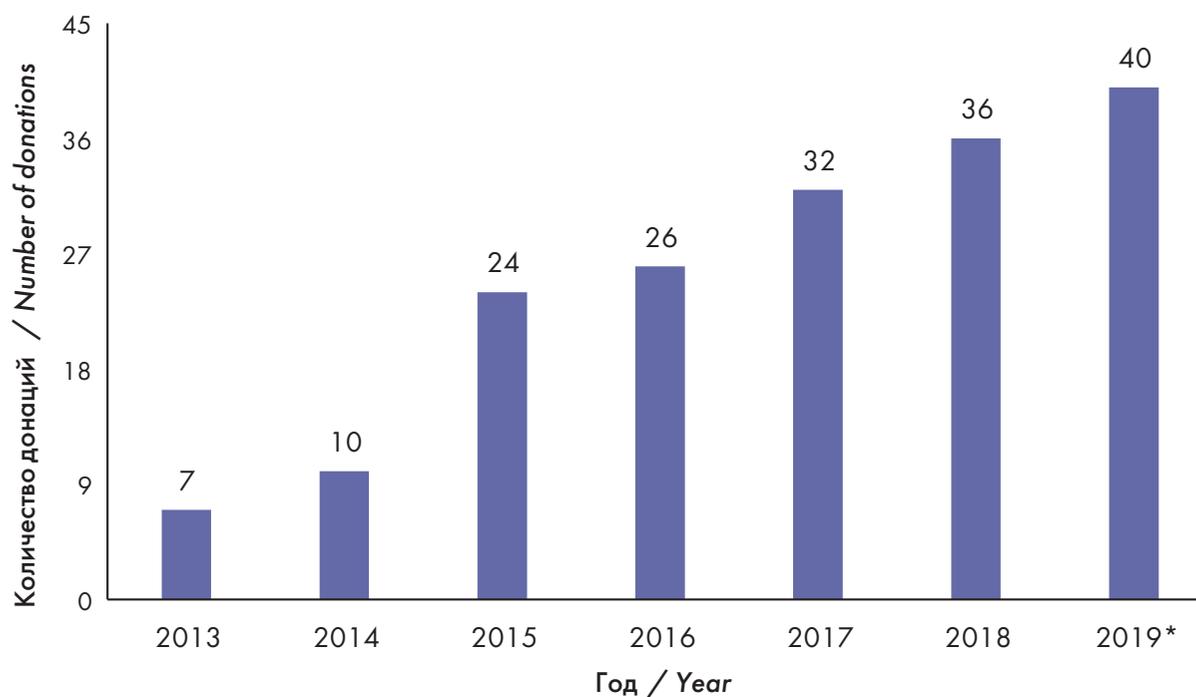


Рисунок 4. Динамика заготовки клеточного материала (* — данные на 25.11.2019)

Figure 4. The dynamics of the donation of cell material (* — data as of 25/11/2019)

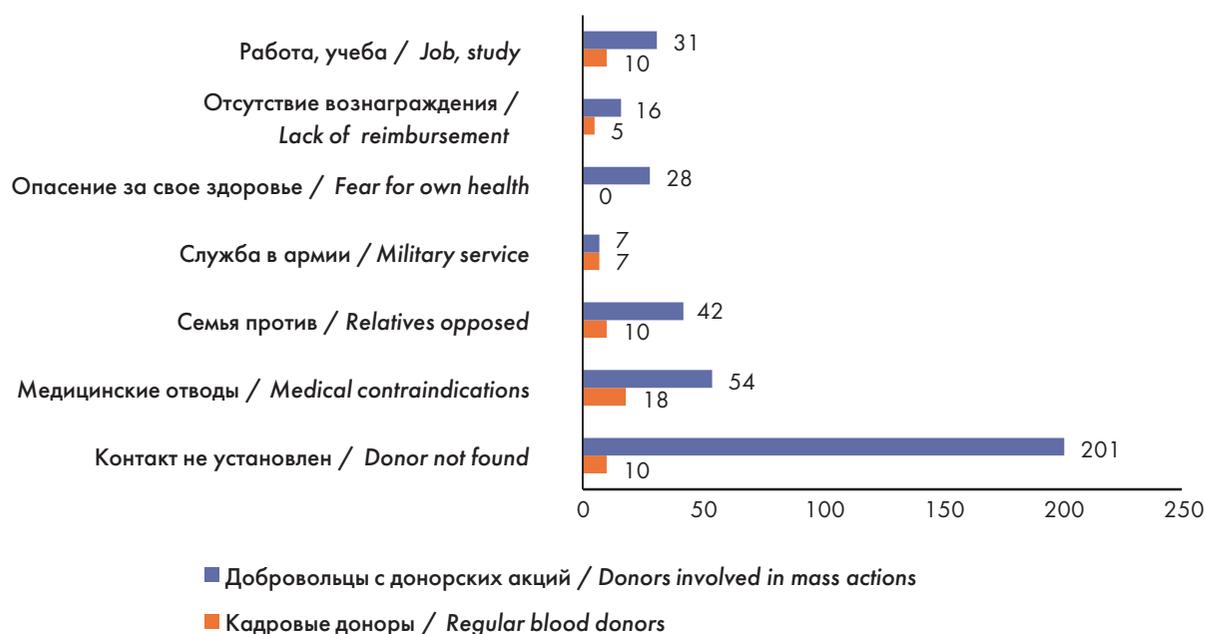


Рисунок 5. Распределение нереализованных запросов на получение образца биоматериала для проведения подтверждающего типирования
Figure 5. Distribution of unrealized requests for a blood sample for confirmatory typing

получено 230 запросов на заготовку клеточного материала, из них 6 запросов на заготовку клеточного материала не реализованы по причинам, не связанным с донором (трансплантационные центры отказались от выполнения трансплантации). Остальные 224 запроса обработаны со следующими результатами: в 175 (78%) случаях клеточный материал заготовлен; в 49 (22%) — заготовка ГСК не состоялась. Распределение нереализованных запросов по причинам и категориям доноров представлено в таблице.

Анализ нереализованных запросов на заготовку ГСК показал, что причина 55,0% невыполненных заготовок — отказ донора по различным личным мотивам (отрицательное отношение членов семьи к донорству ГСК, планирование беременности в ближайшее время, отказ без объяснения причин, опасение за свое здоровье, страх смерти во время афереза или эксфузии, отказ от повторной донации ГСК для того же больного при рецидиве у него заболевания, отсутствие вознаграждения, конфликт с работодателем — угроза потери работы). Причинами 38,8% случаев нереализованных запросов на заготовку ГСК стали медицинские отводы, при этом количество отводов по медицинским показаниям в группе кадровых доноров крови и ее компонентов в два раза ниже этого показателя для добровольцев, привлеченных на донорских акциях. Более того, все медицинские отводы кадровых доноров носят временный характер.

В случаях наличия нескольких совместимых доноров, дополнительными критериями в пользу выбора трансплантационными центрами конкретного донора являются возраст и пол. Около 30% доноров сдали ГСК в возрасте до 25 лет, 50% — в возрасте от 26 до 35 лет,

20% — в возрасте старше 36 лет. Несмотря на то, что примерно 57% потенциальных доноров ГСК в регистре КНИИГиПК это женщины, доля реальных доноров-женщин составила только 33% (58 донаций). Сложившаяся тенденция отражает общепринятую в трансплантологии практику: при выборе совместимого неродственного донора отдавать предпочтение донорам-мужчинам.

Обсуждение

За прошедший период в КНИИГиПК сложилась модель эффективной работы с донором ГСК на всех этапах: рекрутинг, поиск донора, отправка образца на контрольное высокоразрешающее типирование, медицинское обследование донора, заготовка и отправка биоматериала донора в трансплантационный центр. Эффективность работы подтверждена востребованностью донорских ресурсов, соблюдением сроков активации и относительно невысоким процентом отказов от донации (количество отказов в зарубежных регистрах составляет 30–40%, а в некоторых достигает 50% [6]).

Дальнейшее совершенствование работы регистра должно быть направлено на выработку эффективных способов обратной связи, позволяющей оперативно контактировать с потенциальным донором даже через несколько лет после его вступления в регистр, что особенно актуально для когорты доноров, вступивших в регистр в ходе массовых акций. Ввиду изменения контактной информации, смены места жительства решение вопроса о доступности указанных доноров ГСК иногда затягивается на недели либо доноров не удается найти. Одним из путей решения указанной

Таблица. Распределение нереализованных запросов на заготовку ГСК
Table. Distribution of unrealized requests for collection of HSC

| Причины нереализованных запросов на заготовку ГСК <i>The reasons for unrealized requests for collection of HSC</i> | Количество нереализованных запросов (* — данные на 25.11.2019) <i>The number of unrealized requests (* — data of 25/11/2019)</i> | Категории доноров <i>Types of donor</i> | |
|---|---|--|---|
| | | кадровые доноры (мужчины/женщины) <i>regular donors (male/female)</i> | добровольцы с донорских акций (мужчины/женщины) <i>volunteers from donor campaigns (male/female)</i> |
| Медицинские отводы <i>Medical contraindications</i> | 19 | 6 (2/4) | 13 (4/9) |
| Семья против <i>Relatives opposed</i> | 9 | 4 (3/1) | 5 (2/3) |
| Служба в армии <i>Military service</i> | 3 | 2 (2/0) | 1 (1/0) |
| Опасения за свое здоровье <i>Fears for own health</i> | 5 | 1 (1/0) | 4 (0/4) |
| Отказ от повторной донации <i>Refusal to re-donate</i> | 2 | 2 (2/0) | — |
| Отсутствие вознаграждения <i>Lack of reimbursement</i> | 5 | 4 (4/0) | 1 (1/0) |
| Работа/учеба <i>Job/study</i> | 6 | 2 (2/0) | 4 (3/1) |
| Итого <i>Total</i> | 49 | 21 (16/5) | 28 (11/17) |

проблемы может стать изменение стратегии рекрутирования новых доноров — их рекрутинг исключительно из числа кадровых доноров крови и ее компонентов.

Важным аспектом деятельности по повышению эффективности регистра должно стать детальное исследование проблемы «отказов от донорства» на всех этапах работы с донорами. Значительный интерес представляет изучение социально-психологического портрета реального неродственного донора ГСК, опре-

деление его мотивационных, поведенческих и когнитивных характеристик, которые могли бы быть использованы для привлечения в регистр новых доноров. Иными словами, необходимо определить характеристики целевой аудитории, среди которой наиболее целесообразно проводить агитационные мероприятия по привлечению доноров ГСК, с незначительной вероятностью последующих отказов от реальных донаций в будущем.

Литература

1. Макаренко О.А., Алянский А.Л., Иванова Н.Е. и др. Эффективность поиска неродственного донора гемопоэтических стволовых клеток с помощью российской поисковой системы Bone Marrow Donor Search: опыт НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой. Клиническая онкогематология. 2017; (10): 39–44. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-39-44.
2. Афанасьев Б.В., Зубаровская Л.С., Алянский А.Л. и др. Выбор донора при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Российский журнал детской гематологии и онкологии. 2016; (3): 30–6. DOI: 10.17650/2311-1267-2016-3-3-30-36.
3. Логинова М.А., Кутявина С.С., Смирнова Д.Н. и др. Оценка результатов подбора совместимых доноров в Российской Федерации для пациентов, нуждающихся в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Трансфузиология. 2018; 19(3): 39–45.
4. Allele frequencies. <http://www.allele-frequencies.net> (Accessed 22 Apr 2018).
5. Логинова М.А., Парамонов И.В. Опыт работы регистра потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2014; 13(1): 9–12.
6. Beom S.H., Kim E.J., Kim M., Kim T.G. Unrelated hematopoietic stem cell registry and the role of the Hematopoietic Stem Cell Bank. Blood Research. 2016; 51(2): 10–112.

References

1. Makarenko O.A., Alyansky A.L., Ivanova N.E. et al. The effectiveness of the search for an unrelated donor of hematopoietic stem cells using the Russian search software Bone Marrow Donor Search: the experience of the Scientific Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology R.M. Gorbacheva. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2017; (10): 39–44. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-39-44 (In Russian).
2. Afanasyev B.V., Zubarovskaya L.S., Alyansky A.L. et al. Choice of a donor for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Rossiyskiy zhurnal detskoj gematologii i onkologii*. 2016; (3): 30–6. DOI: 10.17650/2311-1267-2016-3-3-30-36 (In Russian).
3. Loginova M.A., Kutjavina S.S., Smirnova D.N. et al. Evaluation of the results of selection of compatible donors in the Russian Federation for patients in need of hematopoietic stem cell transplantation. *Transfuziologiya*. 2018; 19(3): 39–45 (In Russian).
4. Allele frequencies. <http://www.allele-frequencies.net> (Accessed 22 Apr 2018).
5. Loginova M.A., Paramonov I.V. Experience gained in the activity of the Potential Hematopoietic Stem Cells Donor Registry. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2014; 13(1): 9–12 (In Russian).
6. Beom S.H., Kim E.J., Kim M., Kim T.G. Unrelated hematopoietic stem cell registry and the role of the Hematopoietic Stem Cell Bank. *Blood Research*. 2016; 51(2): 10–112.

Информация об авторах

Логинова Мария Александровна, кандидат биологических наук, заведующая научно-исследовательской лабораторией прикладной иммуногенетики ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства»,
e-mail: loginova@niigpk.ru;
610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7088-3986>

Малышева Наталья Алексеевна, начальник отдела развития донорства ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства»,
e-mail: 79091401277@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7419-7454>

Минаева Наталья Викторовна, кандидат медицинских наук, заместитель директора по лечебной работе ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства»,
e-mail: minaeva@niigpk.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8479-3217>

Парамонов Игорь Владимирович, доктор медицинских наук, директор ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства»,
e-mail: paramonov@niigpk.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7205-912X>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 12.12.2019

Принята к печати: 23.12.2019

Information about the authors

Maria A. Loginova, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Research Laboratory of Applied Immunogenetics of the Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia,
e-mail: loginova@niigpk.ru;
610027, Kirov, Krasnoarmeyskaya str., 72
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7088-3986>

Natalia A. Malysheva, Head of the Department of the Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia,
e-mail: 79091401277@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7419-7454>

Natalia V. Minaeva, Cand. Sci. (Med.), Deputy Director for Clinical Work of the Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia,
e-mail: minaeva@niigpk.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8479-3217>

Igor V. Paramonov, Dr. Sci. (Med.), Director of the Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia,
e-mail: paramonov@niigpk.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7205-912X>

*** Corresponding author**

Received 12 Dec 2019

Accepted 23 Dec 2019

ВЫПОЛНЕНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИЙ АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОТ НЕРОДСТВЕННЫХ ДОНОРОВ ИЗ РОССИЙСКОГО И ЗАРУБЕЖНОГО РЕГИСТРОВ В ОДНОМ ТРАНСПЛАНТАЦИОННОМ ЦЕНТРЕ

Васильева В. А. *, Кузьмина Л. А., Паровичникова Е. Н., Дроков М. Ю., Дмитрова А. А., Старикова О. С., Хамаганова Е. Г., Бидерман Б. В., Ахремцова А. А., Гапонова Т. В., Менделеева Л. П., Савченко В. Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является терапией выбора для многих больных злокачественными заболеваниями системы крови. Почти половину всех алло-ТГСК выполняют от неродственных доноров.

Цель: представление динамики и этапов развития неродственного донорства на примере одного трансплантационного центра.

Материалы и методы. В исследовании были проанализированы алло-ТГСК, выполненные в ФГБУ «НМИЦ гематологии» с 2009 г. по март 2019 г. Проанализирована работа группы рекрутинга неродственных доноров и лаборатории тканевого типирования за этот период. Выполнен анализ обращений за 2018 г. в группу поиска неродственного донора с целью исследования неудач поиска. Проведена оценка параметров 206 неродственных доноров из российских и международных регистров, от которых больным была выполнена трансплантация.

Результаты. В 2009–2011 гг. количество алло-ТГСК было не более 20 в год. Однако с 2012 г. после появления возможности поиска неродственных доноров в международной и объединенной базе неродственных доноров костного мозга локальных регистров РФ (далее объединенная база РФ) отмечено увеличение числа алло-ТГСК более чем на 50%. Алло-ТГСК от неродственных доноров РФ составляет 30–40% от всех неродственных алло-ТГСК. 16% потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), включенных в регистр центра, являются кадровыми донорами компонентов крови. 12% больных на момент поиска донора в 2018 г. из-за редкого сочетания HLA-генов не имели совместимого донора, несмотря на увеличивающееся количество неродственных доноров как в объединенной базе РФ, так и в международном регистре. Среди российских доноров, от которых были получены ГСК для алло-ТГСК, не отмечено значимого преобладания мужчин над женщинами по сравнению с международным регистром: 50,7 и 66,7% соответственно, несмотря на предпочтение врачами доноров-мужчин. Результаты 5-летней общей выживаемости больных острыми лейкозами в первой полной ремиссии в зависимости от выполнения алло-ТГСК от донора из регистров РФ или зарубежных регистров сопоставимы: 40 и 39,5% соответственно.

Заключение. За последние 10 лет количество выполняемых алло-ТГСК увеличилось в 5 раз во многом благодаря развитию неродственного донорства: 30–40% трансплантаций ГСК, полученных от неродственных доноров, были выполнены от доноров из объединенной базы РФ, а результаты этих трансплантаций сопоставимы с результатами трансплантаций ГСК, полученных от доноров из зарубежных регистров.

Ключевые слова: трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, донорство, объединенная база данных неродственных доноров локальных регистров РФ

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Васильева В.А., Кузьмина Л.А., Паровичникова Е.Н., Дроков М.Ю., Дмитрова А.А., Старикова О.С., Хамаганова Е.Г., Бидерман Б.В., Ахремцова А.А., Гапонова Т.В., Менделеева Л.П., Савченко В.Г. Выполнение трансплантаций аллогенных гемопоэтических стволовых клеток от неродственных доноров из Российского и зарубежного регистров в одном трансплантационном центре. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(3): 299–311. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-299-311>

IMPLEMENTATION OF ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION FROM UNRELATED DONORS FROM RUSSIAN AND FOREIGN REGISTRIES

Vasilyeva V. A.*, Kuzmina L. A., Parovichnikova E. N., Drokov M. Yu., Dmitrova A. A., Starikova O. S., Khamaganova E. G., Biderman B. V., Akhremtsova A. A., Gaponova T. V., Mendeleeva L. P., Savchenko V. G.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) is a standard treatment for many patients with hematological malignancies. Over the past 20 years, an increase in transplantation activity has been noted throughout the world. About 50 % of all allo-HSCT are transplanted from unrelated donors.

Aim: to present the dynamics and stages of the development of unrelated donation using the example of one transplant center.

Materials and methods. This study analyzed Allo-HSCT performed from 2009 to March 2019 at the National Research Center for Hematology (NRCH). The work of the unrelated donor recruiting group and the tissue typing laboratory was analyzed for this period. 107 patient requests for unrelated donor search were dissected to identify search failures. The parameters of 206 unrelated donors were estimated depending on the register (Russian Federation/foreign).

Results. The number of allo-HSCTs did not exceed more than 20 per year, in 2009–2011. Since 2012, the number of allo-HSCT significantly increased when the possibility for searching for unrelated donors abroad as well as in the Russian Federation (RF) databases appeared. During this time an increase by more than 50 % was noted in the number of allo-HSCTs. Allo-HSCs from unrelated donors of the Russian Federation make up 30–40 % of all unrelated allo-HSCs. 16 % of potential donors of hematopoietic stem cells included in the NRCH registry are donors of the human blood components. Despite the increasing number of unrelated donors in international and RF databases, 12 % of patients did not find a compatible donor in any of the registers, due to a rare combination of HLA genes. It was revealed that among donors from the RF from whom allo-HSCT was performed, there was not a significant prevalence of men, compared to the foreign registry, 50.7 % and 66.7 %, respectively, despite the preference of donor-male by doctors. The 5-year overall survival in patients with acute leukemia in the first complete remission, depending on the performance of allo-HSCT from a donor from the RF or foreign registers, are comparable, 40 % and 39.5 %, respectively.

Conclusion. The number of allo-HSCT has increased 5 times over the past 10 years largely due to the development of unrelated donation: 30–40 % of allo-HSC transplants received from unrelated donors were performed from donors from the United database of the Russian Federation. The 5-year overall survival of these patients is comparable with the results of the overall survival patients who received transplants from donors from foreign registers.

Keywords: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, donation, united database of unrelated donors

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Vasilyeva V.A., Kuzmina L.A., Parovichnikova E.N., Drokov M.Yu., Dmitrova A.A., Starikova O.S., Khamaganova E.G., Biderman B.V., Akhremtsova A.A., Gaponova T.V., Mendeleeva L.P., Savchenko V.G. Implementation of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors from Russian and foreign registries. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2020; 65(3): 299–311 (In Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-299-311>

Введение

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является одним из этапов программного лечения многих злокачественных и наследственных заболеваний у детей и взрослых [1–4]. За последние 10 лет отмечен 2–3-кратный прирост выполненных трансплантаций в 655 центрах из 48 стран мира [5]. В 4–6 раз увеличилось количество алло-ТГСК и в России, особенно от неродственных и гаплоидентичных доноров [5, 6]. Это связано не только с увеличением количества выполняемых трансплантаций, потребности в алло-ТГСК, но и с совершенствованием технологии выполнения ТГСК от гаплоидентичных доноров (гапло-ТГСК), а также появлением объединенной базы неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) локальных регистров РФ (далее — объединенная база РФ) [6]. По данным статистического сборника «Здравоохранение 2017», ежегодно 28,7 тыс. человек в России заболевают новообразованиями лимфоидной и кроветворной ткани [7]. Примерно шестая часть этих больных нуждается в проведении алло-ТГСК, но только у 25–30% больных имеется HLA-идентичный сиблинг [8]. Для остальных больных необходимо выполнять поиск неродственного донора или, в случае его отсутствия, проводить гапло-ТГСК. По данным Российского межрегионального регистра ТГСК, в 2018 г. в РФ существовало 20 трансплантационных центров, из них 12 проводили и алло-ТГСК, только 3 центра выполняли более 75 алло-ТГСК в год, 2 центра — по 52 и 65 алло-ТГСК в год, а все остальные центры в среднем выполняли 5 алло-ТГСК в год [9]. Суммарно в 2018 г. было выполнено 606 алло-ТГСК, что составило 112 на 10 млн населения, в то время как в Европе этот показатель составляет 580 алло-ТГСК на 10 млн населения [9, 10].

Для выполнения алло-ТГСК от неродственного донора необходима максимальная совместимость по генам HLA-системы (Human Leucocytes Antigen). Распределение HLA-генотипов имеет расовые и национальные особенности [6, 11]. При численности немецкого регистра 8 млн доноров вероятность нахождения полностью совместимого донора для немцев составляет около 70%, а вероятность нахождения донора для больного другой национальности в этом регистре значительно ниже [12]. Например, для жителя азиатского происхождения — только 5% [12]. Вероятность найти HLA-совместимого донора для российских больных в объединенной базе РФ может быть выше, чем во многих зарубежных регистрах, доноры в которых могут значимо отличаться по HLA-генам от доноров из российской популяции. Рядом авторов показано, что выживаемость больных, которым алло-ТГСК выполнена от донора из национального регистра, выше, чем у больных, трансплантация которым выполнена от доноров из зарубежных регистров [13, 14].

В настоящее время в Российской Федерации работает объединенная информационная онлайн-платформа Bone Marrow Donor Search (BMDS), объединяющая локальные российские регистры доноров ГСК, численностью около 90 тысяч доноров [6]. Этот ресурс значительно облегчает поиск неродственного донора: достаточно наличия результата HLA-типирования больного и его информированного согласия о передаче персональных данных.

Целью данной работы является представление динамики и этапов развития неродственного донорства на примере одного трансплантационного центра.

Материалы и методы

В выполнении алло-ТГСК в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (НМИЦ гематологии) участвуют следующие подразделения: отдел процессинга клеток крови и криоконсервирования с группой рекрутинга неродственных доноров, лаборатория тканевого типирования, группа поиска неродственных доноров ГСК и отделение трансплантации.

В работе проанализированы 473 алло-ТГСК, выполненные в период с февраля 2009 г. по март 2019 г. Рассмотрены алло-ТГСК с использованием трансплантата от неродственных доноров, проведен анализ характеристик отечественных и международных доноров, а также общей выживаемости больных, которым была выполнена алло-ТГСК от этих доноров. В случае наличия у больного показаний к алло-ТГСК [15] и при отсутствии родственного HLA-идентичного донора проводился поиск доноров в объединенной базе РФ, а в дальнейшем — и в зарубежных регистрах. Блок-схема поиска неродственного донора в представлена на рисунке 1.

Проведен анализ 107 обращений с целью поиска неродственного донора больным в 2018 г., по итогам которого все больные были разделены на 3 группы в зависимости от наличия полностью совместимого, частично совместимого или отсутствия донора в объединенной базе РФ. В последующем всем этим больным произведен поиск донора в международном регистре.

В настоящее время в объединенную базу РФ входит 15 локальных регистров, информация о HLA-генотипах доноров которых объединена посредством информационной онлайн-платформы BMDS [6]. Лидерами по количеству неродственных доноров в локальном регистре являются кировский регистр «Росплазма», санкт-петербургский регистр НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой и московский регистр НМИЦ гематологии. Потенциальным донором ГСК может стать человек в возрасте от 18 до 45 лет, у которого отсутствуют онкологические, психические заболевания и гемотрансмиссивные инфекции. Желающий стать донором ГСК проходит анкетирование (где

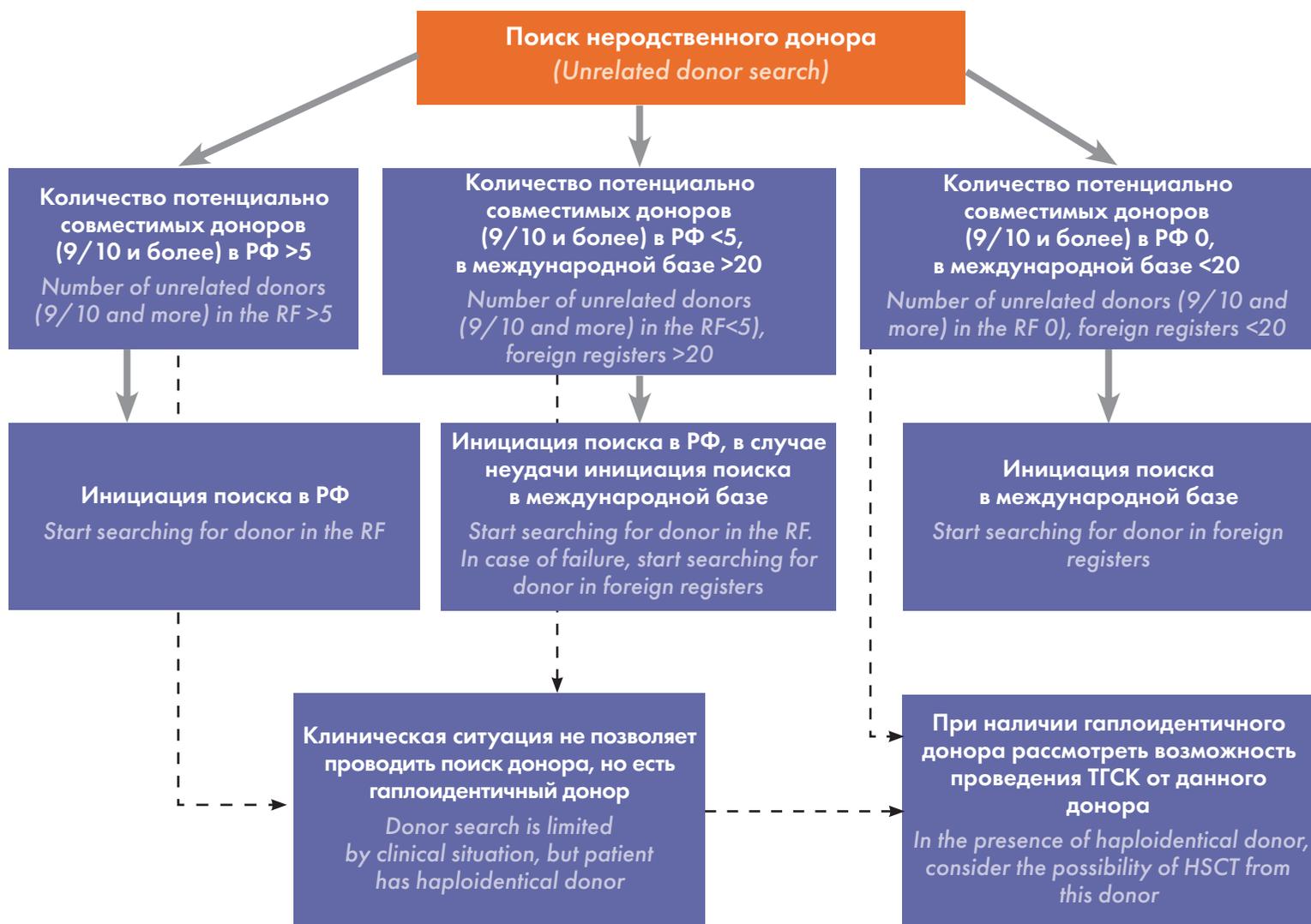


Рисунок 1. Схема поиска неродственного донора в НМИЦ гематологии

Figure 1. Scheme of unrelated donor search in NRCH

указана персональная информация — дата рождения и контактные данные, по которым с ним можно связаться), а также лабораторное исследование для определения HLA-генотипа. Для этого проводят взятие венозной крови (10 мл), в некоторых случаях возможно взятие образцов буккального эпителия. При этом в BMDS не вносится личная информация о доноре, а только идентификатор донора, который присваивается регистром, пол, год рождения и HLA-генотип. Личная информация хранится в локальном регистре.

В регистр НМИЦ гематологии к марту 2019 г. рекрутировано 9244 донора. Количество доноров с каждым годом растет благодаря акциям по привлечению доноров, которые проводит группа рекрутинга, организованная в 2015 г. Кадровыми донорами компонентов крови являются 16% потенциальных доноров ГСК, включенных в регистр. Кадровые доноры компонентов крови имеют большую осведомленность о процедурах донации и в случае необходимости с высокой степенью

ответственности подходят к вопросу донации ГСК для больных, страдающих заболеваниями системы крови.

HLA-типирование по низкому разрешению (разрешение на уровне групп HLA-аллелей по пяти локусам HLA-A*, -B*, -C*, -DRB1*, -DQB1*) проведено у 7194 доноров, и они включены в состав регистра НМИЦ гематологии (по состоянию на март 2019 г.). HLA-типирование доноров проводили в лаборатории тканевого типирования методом гибридизации с олигонуклеотидными зондами (SSO) — Immucor Transplant Diagnostic, Inc. (США) на платформе мультиплексного флуоресцентного анализатора Luminex 200 Immucor Transplant Diagnostic, Inc. (США) в соответствии с рекомендациями производителя по пяти локусам HLA-A*, -B*, -C*, -DRB1*, -DQB1* с разрешением на уровне групп HLA-аллелей (соответствует антигенам HLA). Помимо типирования потенциальных неродственных доноров лабораторией тканевого типирования

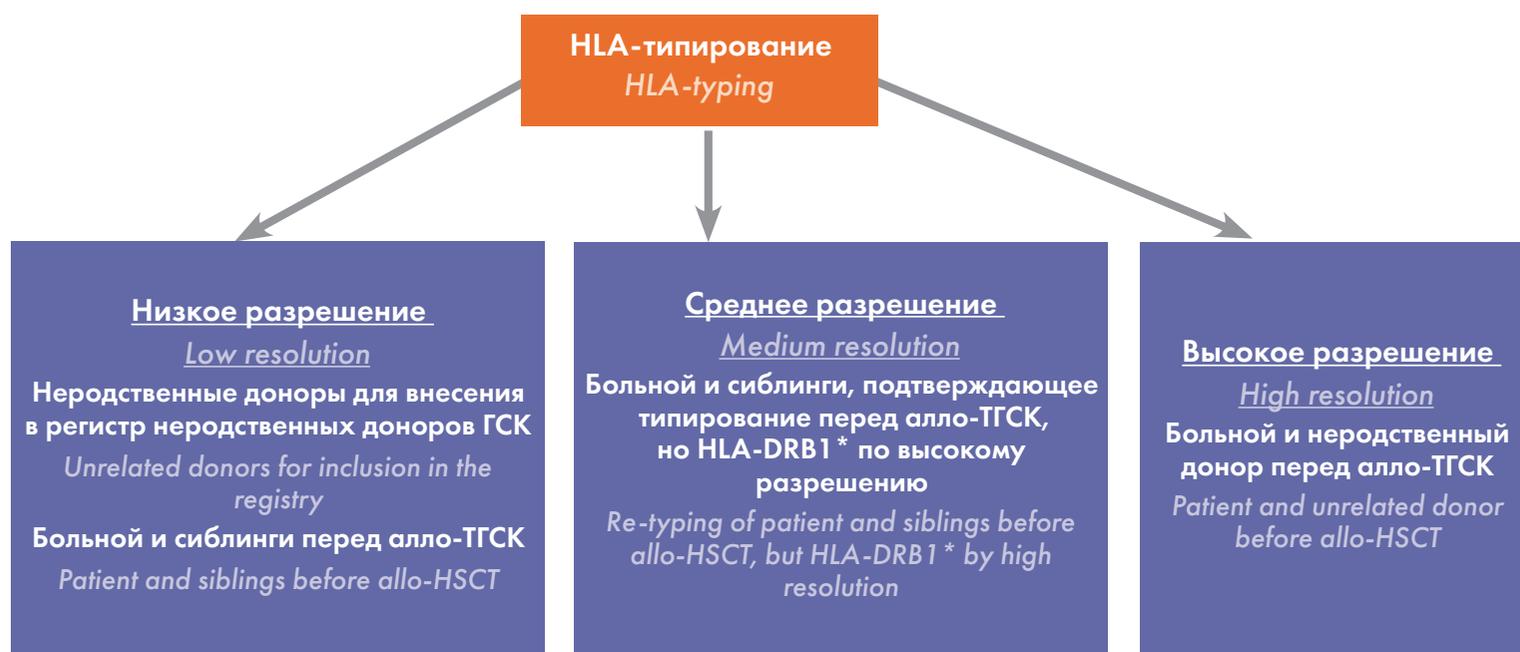


Рисунок 2. Виды HLA-типирований для пациентов и доноров
Figure 2. Types of HLA-typing for patients and donors

рования ежегодно проводится типирование больных и их потенциальных родственных доноров. В 2018 г. было выполнено типирование 180 больных и 400 родственных доноров. При поиске неродственного донора проводилось типирование по высокому разрешению (идентификация аллелей, кодирующих одинаковую аминокислотную последовательность внутри антигенсвязывающего сайта) методом гаплотип-специфического секвенирования наборами Protrans S4 (Protrans, Германия) были протипированы 110 больных и 85 проверочных донорских типирований. Типирования проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению типирований перед алло-ТГСК от неродственных доноров [16]. Варианты типирования и категории больных и доноров, которым проводится определенный вид типирования, представлены на рисунке 2.

Несмотря на небольшое количество протипированных доноров регистра НМИЦ гематологии (7194 донора по состоянию за март 2019 г.), уже выполнено 27 заготовок ГСК, из них 16 — для больных НМИЦ гематологии, 11 — для других трансплантационных центров. При проведении типирования неродственных доноров был выявлен новый аллель HLA-C*12:138 [17]. 11 (41 %) доноров из 27, от которых была выполнена донация ГСК, являлись кадровыми донорами компонентов крови.

В 11 случаях донация ГСК в НМИЦ гематологии проходила от доноров из других регистров. Это было связано либо с отсутствием возможности сбора ГСК у этого регистра, либо с удобством для донора (близость проживания), либо с другими факторами.

Статистический анализ. Анализ данных проводили с использованием статистического пакета IBM SPSS v.23 (США). Для оценки общей выживаемости был использован метод Каплан — Мейера. Для сравнения двух кривых применялся лог-ранк тест. Порог статистической значимости p был принят равным 0,05.

Результаты

С февраля 2009 г. по март 2019 г. в НМИЦ гематологии выполнено 473 алло-ТГСК (рис. 3), из них повторных алло-ТГСК — 51, среди которых третья и более алло-ТГСК — у 8 больных. Трансплантация аутологичных ГСК в качестве предшествующего этапа терапии выполнена 23 из 473 больных.

Всего 251 (53 %) из 473 алло-ТГСК выполнено от родственного донора, как HLA-идентичного, так и гаплоидентичного. От неродственных доноров выполнено 222 алло-ТГСК, в том числе повторных алло-ТГСК, при этом из объединенной базы РФ — 81 (36,5 %) алло-ТГСК. Первая алло-ТГСК от отечественного неродственного донора в НМИЦ гематологии была выполнена из самарского банка пуповинной крови в 2012 г., большее количество алло-ТГСК от российских доноров начали проводить с 2014 г., когда количество доноров во всех регистрах РФ составляло не более 40 тыс. человек [6]. В 2015 г. произошло объединение регистров неродственных доноров медицинских учреждений РФ в единую информационно-поисковую базу, что позволило увеличить долю трансплантаций в НМИЦ гематологии, выполненных от российских неродственных доноров до 40 %, а к 2018 г. — до 70,3 % (рис. 4). С 2012 г. до 40 % от всех алло-ТГСК выполнено

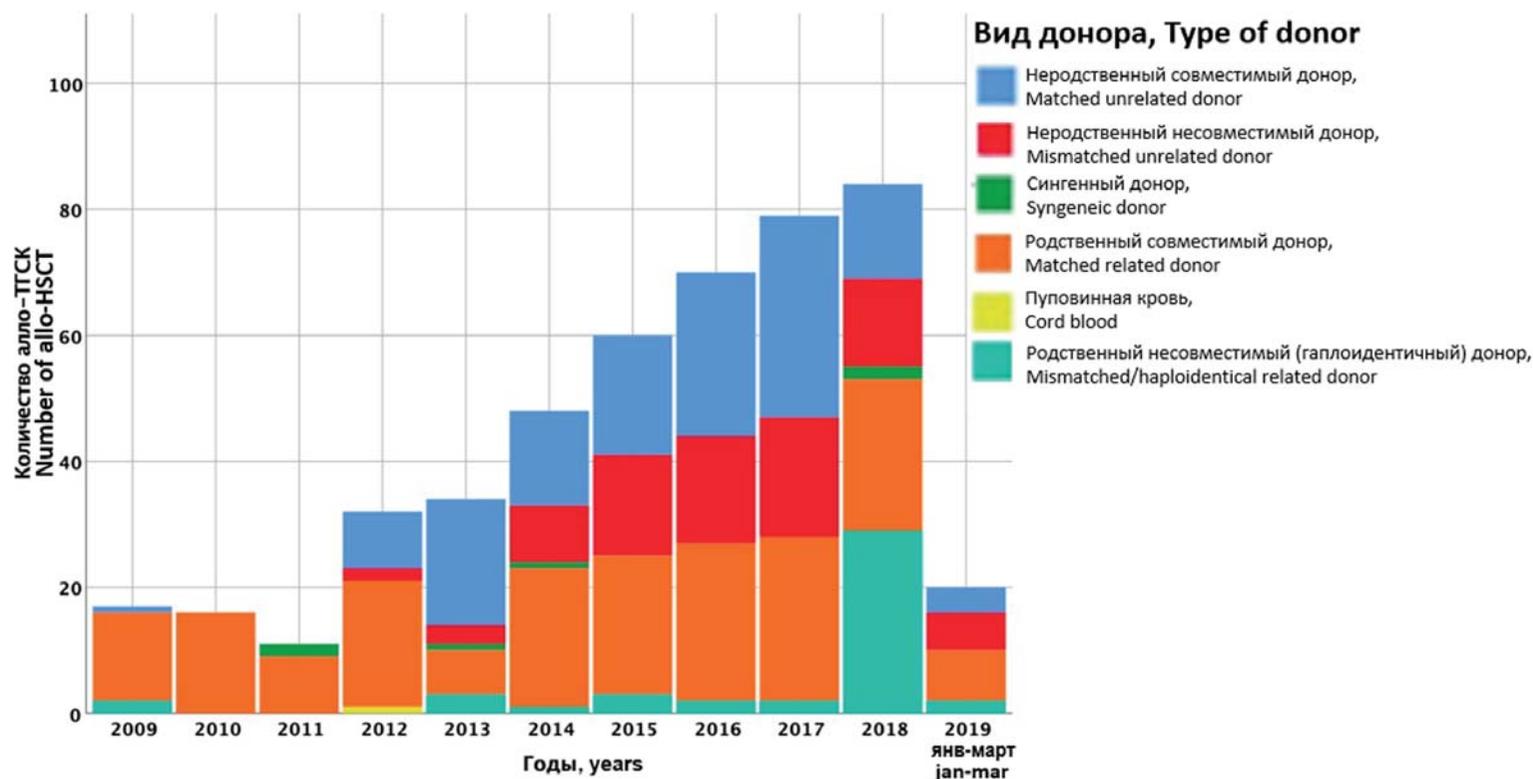


Рисунок 3. Динамика трансплантационной активности НМИЦ гематологии (на этом рисунке и далее данные по март 2019 г.)
Figure 3. Dynamics of NRCH transplantation activity (hereinafter data including March 2019)

от неродственных доноров (рис. 3). При этом в 2018 г. уменьшилась доля алло-ТГСК от неродственных доноров в связи с увеличением алло-ТГСК от гаплоидентичных родственных доноров (рис. 3).

В 2018 г. было зарегистрировано 107 обращений по поводу больных, направленных из медицинских учреждений для инициального поиска неродственного донора в объединенной базе данных локальных регистров РФ. Практически все доноры, включенные в базу, были протипированы по низкому разрешению по пяти локусам HLA-A*, -B*, -C*, -DRB1*, -DQB1* с разрешением на уровне групп HLA-аллелей. По итогам проведенного анализа обращений все больные были разделены на 3 группы.

1. Больные, для которых был найден хотя бы один полностью совместимый донор, то есть подходящий по 5 локусам типирования низкого разрешения (35,5%, $n = 38$ больных).

2. Больные, для которых был найден один и более частично совместимый донор с наличием не более одного расхождения в 5 локусах HLA по низкому разрешению (33,7%, $n = 36$ больных).

3. Больные, которым не было найдено ни одного донора в объединенной базе РФ (30,8%, $n = 33$ больных).

Были проанализированы указанные выше группы больных и вероятность нахождения доноров в международных регистрах. У 2 больных, которым был найден в регистре РФ «хотя бы один полностью совместимый донор», в международных регистрах полностью совме-

стимых доноров не было. В обоих случаях была выполнена заготовка от доноров из регистров РФ (табл. 1).

В группе больных с наличием одного и более частично совместимых доноров в объединенной базе РФ в 50% случаев в международных регистрах были найдены полностью совместимые доноры, в 6 случаях донорации проводили от этих зарубежных доноров. Но у 50% больных из этой группы полностью совместимого донора найти не удалось и при обращении в международную поисковую базу неродственных доноров костного мозга (world marrow donor association — WMDA), насчитывающую более 34 млн доноров.

Для больных, которым в регистрах РФ не было найдено донора, также трудно было найти донора и в WMDA. У 39,4% таких больных не было доноров в WMDA. В этом случае рассматривался вопрос проведения трансплантации от гаплоидентичного родственного донора.

Таким образом, полностью совместимый донор был найден у 64 из 107 больных, а для 12% больных невозможно было найти донора ни в одном из регистров неродственных доноров.

Из 81 российского донора, у которых были получены ГСК для больных НМИЦ гематологии, 36 являлись донорами кировского регистра («Росплазма»), 19 — санкт-петербургского (НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой), 16 — московского (НМИЦ гематологии), 6 — челябинского (станция переливания крови г. Челябинска), 1 — самарского (станция переливания крови г. Самара),

Таблица 1. Распределение больных в зависимости от результатов поиска неродственного донора в объединенной базе РФ и международных регистрах**Table 1.** Distribution of patients depending on search results of unrelated donors in Russian and international registries

| Российские регистры <i>Russian registries</i> | | Международные регистры <i>International registries</i> | | |
|---|-------|--|---|---|
| | | полностью совместимый донор <i>full-matched donor (%)</i> | частично совместимый донор <i>mismatched donor (%)</i> | донора нет <i>absence of donor (%)</i> |
| Наличие хотя бы одного полностью совместимого донора (n = 38) <i>At least one full-matched donor (n = 38)</i> | 35,5% | 95,5 | 4,5 | — |
| Наличие хотя бы одного частично совместимого донора (n = 36) <i>At least one mismatched donor (n = 36)</i> | 33,7% | 50 | 50 | — |
| Донора нет (n = 33) <i>Absence of donor (n = 33)</i> | 30,8% | 24,2 | 36,4 | 39,4 |

Таблица 2. Численность регистров РФ и количество алло-ТГСК, выполненных от доноров из этих регистров**Table 2.** The number of RF registries and the number of allo-HSCT performed from donors from these registries

| Регистр <i>Registry</i> | Количество доноров в регистре <i>The number of donors in the registry</i> | Количество, выполненных алло-ТГСК от доноров из регистра <i>The number of allo-HSCTs, which were performed from donors from these registries</i> |
|--|--|---|
| Кировский регистр «Росплазма» <i>Kirov Registry "Rosplasma"</i> | 37184 | 36 |
| Санкт-петербургский регистр (НИИ ДОГиТ им. Р. М. Горбачевой) <i>Saint-Petersburg Registry (R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation)</i> | 20511 | 19 |
| Московский регистр (НМИЦ гематологии) <i>Moscow Registry, NRCH</i> | 7194 | 16 |
| Челябинский регистр (станция переливания крови г. Челябинска) <i>Chelyabinsk Registry, (Blood bank)</i> | 4634 | 6 |
| Самарский регистр (станция переливания крови г. Самары) <i>Samara, Blood bank Registry</i> | 2993 | 1 |
| Новосибирский центр крови <i>Novosibirsk blood center</i> | 1401 | 1 |

1 — новосибирского (Новосибирский центр крови). В таблице 2 приведены численность регистров доноров по состоянию на март 2019 г. и количество выполненных алло-ТГСК больным НМИЦ гематологии от доноров из этих регистров.

Были сопоставлены параметры неродственных доноров, от которых была выполнена алло-ТГСК как из РФ, так и из зарубежных регистров (табл. 3). Повторные доноры от того же донора не включались в исследование.

Не выявлено значимых различий между отечественными и зарубежными донорами по группе крови и источнику трансплантата, однако среди доноров из РФ не было преобладания мужчин, несмотря на то, что при выборе донора предпочтение отдавалось лицам мужского пола. При анализе гендерного состава всех доноров, состоящих в регистрах, было выявлено, что в WMDA около 41,7% доноров-мужчин и 58,3%

доноров-женщин, подобное соотношение отмечается и в объединенной базе регистров РФ: доноров-мужчин 46,9%, а доноров-женщин 53,1% [18].

Была проанализирована общая выживаемость больных острыми лейкозами в первой полной ремиссии ($n = 116$) в зависимости от выполнения алло-ТГСК от донора из регистров РФ или зарубежных регистров. Характеристика групп сравнения представлена в таблице 4.

Показатели 5-летней общей выживаемости при использовании ГСК от российских и зарубежных доноров оказались одинаковыми (рис. 5). Следовательно, при наличии у больного донора как в российском, так и зарубежных регистрах предпочтение должно отдаваться донору из регистров РФ, что связано не только с национально-этническими особенностями, территориальной близостью донора, но и с финансовыми затратами.

Таблица 3. Параметры неродственных доноров
Table 3. Unrelated donor parameters

| Параметры Parameters | | Доноры из РФ, n = 71 (%) Donors from RF | Зарубежные доноры n = 135 (%) Foreign donors, n = 135 (%) | P |
|--|--|--|--|------|
| Пол (Sex) | Женщины (Female) | 49,3 | 33,3 | 0,03 |
| | Мужчины (Male) | 50,7 | 66,7 | |
| Группа крови (Blood group type) | O (I) | 39 | 42 | 0,95 |
| | A (II) | 33,8 | 35,7 | |
| | B (III) | 20,7 | 15,3 | |
| | AB (IV) | 6,5 | 7 | |
| Источник трансплантата (Graft source) | Костный мозг (Bone marrow) | 32,5 | 39,2 | 0,94 |
| | Стволовые клетки крови (Peripheral blood stem cell) | 67,5 | 60,8 | |

Таблица 4. Характеристика больных с острыми лейкозами в зависимости от выполнения алло-ТГСК от донора из регистров РФ или зарубежных регистров

Table 4. Characterization of acute leukemia patients depending on the performance of allo-HSCT from a donor from Russian Federation or foreign registers

| Параметры Parameters | | Зарубежные доноры Foreign donors, n = 68 | Доноры из РФ, n = 48 Donors from RF, n = 48 |
|---|---|---|--|
| Пол (Sex), n | Муж (Male) | 30 | 22 |
| | Жен (Female) | 38 | 26 |
| Возраст, разброс (медиана), годы Age, range (Median), years | | 19–60 (34) | 19–58 (38) |
| Диагноз, n Diagnosis, n | Острый лимфобластный лейкоз (Acute lymphoblastic leukemia) | 23 | 13 |
| | Острый миелобластный лейкоз (Acute myeloblastic leukemia) | 45 | 35 |
| Тип донора в зависимости от HLA-генов, n Donor type according to HLA system, n | Частично совместимый (mismatched) | 26 | 20 |
| | Полностью совместимый (full matched) | 42 | 28 |
| Источник трансплантата, n Graft source, n | Костный мозг (Bone marrow) | 29 | 14 |
| | Стволовые клетки крови (Peripheral blood stem cell) | 39 | 34 |
| Вид кондиционирования, n Conditioning regimen, n | Миелоаблативный (myeloablative) | 21 | 11 |
| | Пониженной интенсивности (reduce intensity) | 47 | 37 |
| Острая РТПХ в анамнезе, n Acute GVHD in anamnesis, n | Да (Yes) | 24 | 13 |
| | Нет (No) | 44 | 35 |

Примечание. РТПХ — реакция трансплантат против хозяина.

Note. GVHD — graft versus host disease.

Обсуждение

За последние 20 лет в мире отмечается увеличение количества алло-ТГСК, несмотря на быструю эволюцию и развитие таргетной терапии, клеточных технологий и иммуномодулирующих препаратов [5, 19]. В НМИЦ гематологии увеличение количества алло-ТГСК началось с 2012 г. после появления возможности поиска неродственных доноров в международной, а с 2014 г. — в объединенной базе неродственных доноров РФ. Около 30–40% алло-ТГСК от всех неродственных доноров выполнялись от доноров из объединенной базы РФ. Аналогичные данные были получены и в НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой [6]. С увеличением численности локальных российских регистров

открываются все большие возможности подбора совместимого донора, и в 2018 г. в НМИЦ гематологии около 70% неродственных доноров, ГСК которых были использованы для алло-ТГСК, были донорами из России. При работе с донорами отделы рекрутинга регистров обращают внимание, что кадровые доноры крови являются более информированными и ответственно подходят к вопросу донации ГСК; в нашем исследовании из 27 доноров, от которых произведена заготовка ГСК, 41% были кадровыми донорами крови.

Несмотря на увеличивающуюся от года к году численность как объединенной базы неродственных доноров РФ, так и международной базы для 12% больных, которым проводился поиск неродственного

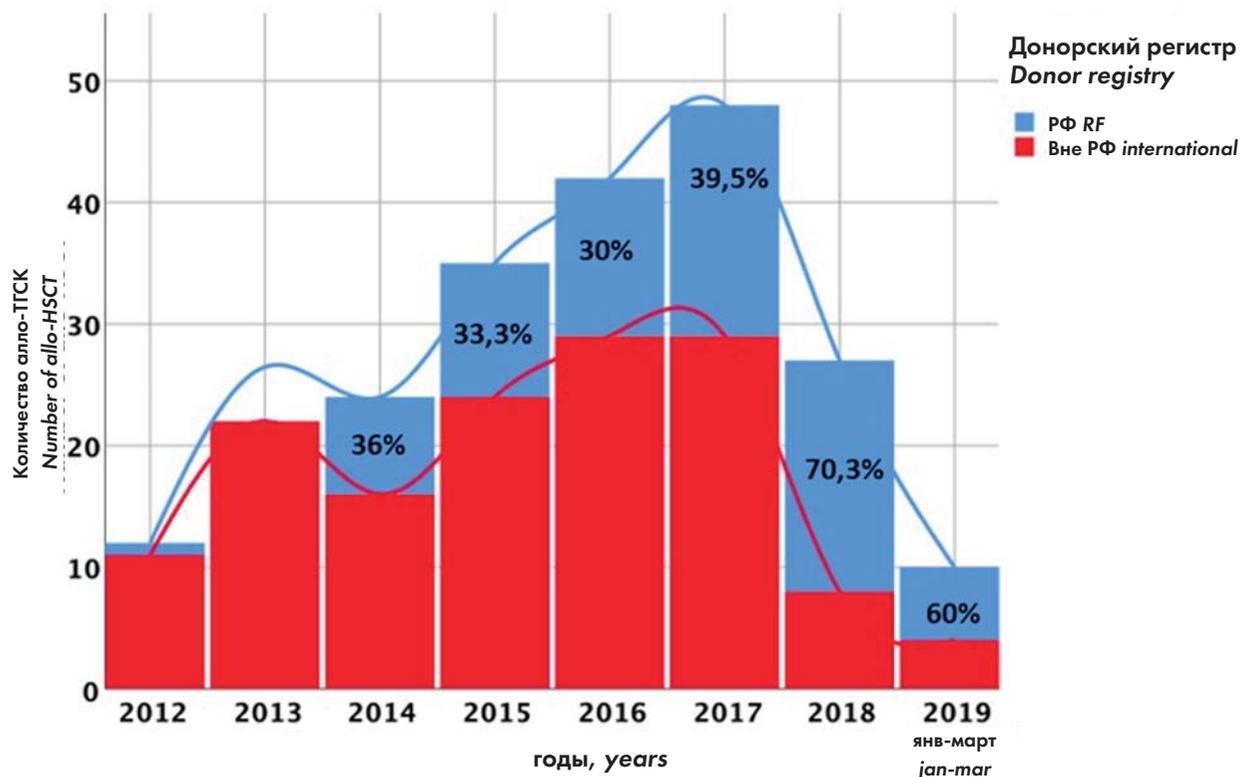


Рисунок 4. Соотношение неродственных доноров (из РФ и международных регистров), использованных для проведения алло-ТГСК в НМИЦ гематологии
Figure 4. Correlation of unrelated donors (from Russian and foreign registries) HSC of whom were used for allo-HSCT in NRCH

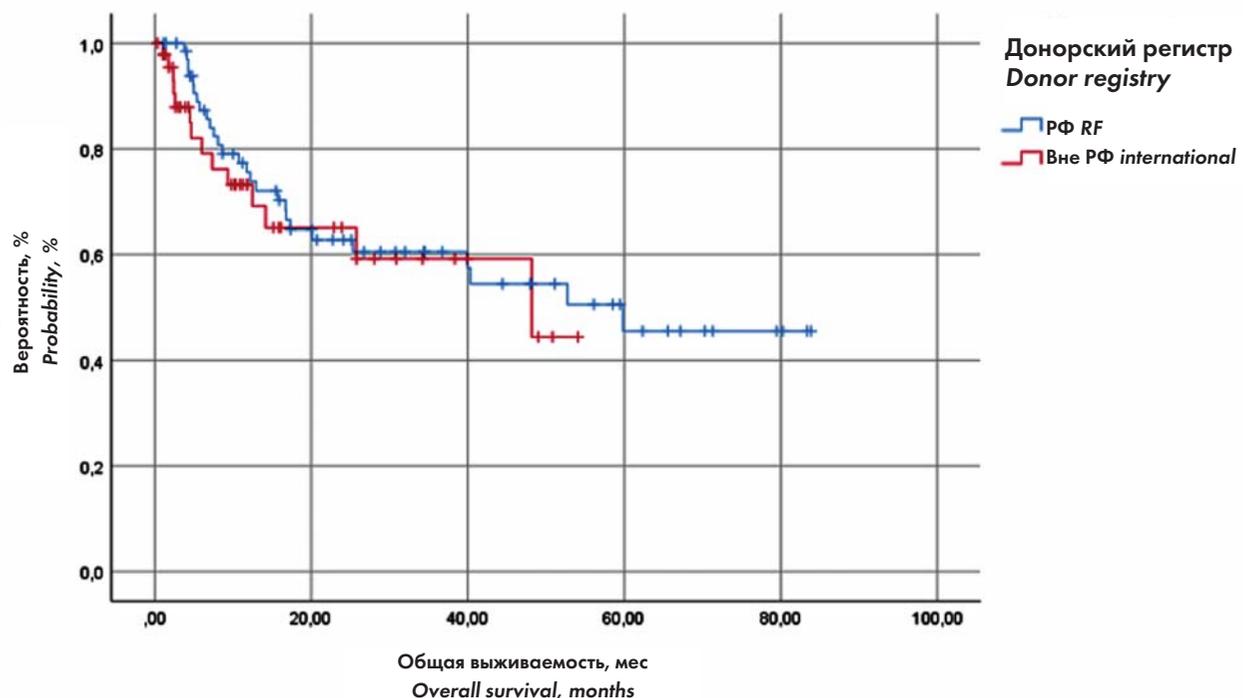


Рисунок 5. Общая выживаемость больных при алло-ТГСК от неродственных доноров (из РФ и международных регистров)
Figure 5. Overall survival of patients after allo-HSCT depending on unrelated donors (from Russian and foreign registries)

донора в НМИЦ гематологии, донор не был найден ни в одном из существующих регистров. В этих случаях алло-ТГСК от гаплоидентичного донора является альтернативной опцией [5]. Однако численность и этнический состав объединенной базы регистров РФ еще крайне малы: из 107 обращений по поиску

донора только для 35,5% больных найден полностью совместимый донор, в то время как в более обширных базах эта вероятность намного больше. Например, при обращении в японскую базу данных неродственных доноров для 2201 (96%) из 2297 больных был найден совместимый донор, численность этой базы

данных составляет 460 тысяч доноров, а поиск осуществлялся по 4 локусам HLA-A*, -B*, -C*, -DRB1* [20]. При обращении в NMDP (National Marrow Donor Program Национальная программа доноров костного мозга США) для 75% представителей европеоидной расы можно найти донора совместимого по 4 локусам HLA-A*, -B*, -C*, -DRB1*, в то время как для других этнических групп эта вероятность значительно ниже, и для афроамериканцев составляет только 19%, при этом что NMDP является одной из самых крупных баз данных, в 2014 г. в нее входило более 10 млн доноров [21].

При сравнении основных параметров неродственных доноров, от которых была выполнена донация ГСК больным НМИЦ гематологии, не выявлено достоверных различий по группе крови и источнику трансплантата. Однако при гендерном анализе установлено, что среди состоявшихся доноров из международного регистра мужчины преобладали над женщинами, в то время как в нашей работе донорами из объединенной базы РФ являлось примерно одинаковое количество мужчин и женщин (50,7 и 49,3% соответственно). Ограниченное количество доноров в регистрах РФ не позволяет отдавать предпочтение при выборе донора мужчинам, хотя известно, что при проведении алло-ТГСК реципиентам-мужчинам при выборе донора-женщины увеличивается вероятность развития острой РТПХ [22]. В работе О. А. Макаренко и соавт. [23] из НИИ ДОГиТ им. Р. М. Горбачевой, выполненной в начале 2016 г., среди 33 российских доноров ГСК преобладали мужчины (61,8%).

Нами не выявлено значимого различия в 5-летней общей выживаемости у больных острыми лейкозами в первой полной ремиссии в зависимости от выполнения алло-ТГСК от донора из регистров РФ или зарубежных регистров. Однако в данном сравнении количество доноров из международного регистра было больше. В работах D. Furst и соавт. [13] и Y. Morishima и соавт. [14] было показано, что общая выживаемость больных после алло-ТГСК от доноров из национального регистра оказалась лучше, чем у больных, у которых для алло-ТГСК ГСК были получены от зарубежных доноров. Авторы объясняют эти различия

тем, что доля больных с редкими генотипами HLA значительно выше у больных, получивших трансплантаты от зарубежных доноров, и иммунологически релевантные локусы HLA, даже при полной совместимости, иногда находятся за пределами классически типичных локусов, что и может приводить к развитию смертельных осложнений [13]. При выборе доноров из разных этнических групп на исход алло-ТГСК может повлиять разнообразие «иммуногенетического фона». Дополнительный риск может быть связан с длительным поиском донора, что может привести к прогрессии заболевания [13].

Важным моментом при поиске неродственного донора является и стоимость, включающая затраты на активацию и доставку трансплантата, полученного от зарубежного донора, которая превышает более чем в 5 раз на аналогичную активацию и доставку трансплантата от донора из РФ [6]. Учитывая отсутствие различий в общей выживаемости больных после алло-ТГСК в зависимости от вида донора (международный или национальный), а также значительно меньшие затраты на активацию донора из РФ, очевидно, что предпочтение должно отдаваться донору из РФ.

Неуклонный рост количества алло-ТГСК, в том числе выполненных от неродственных и гаплоидентичных доноров, отражает повышение качества оказания медицинской помощи больным с заболеваниями крови, а также развитие необходимой инфраструктуры трансплантационных центров, что определяет необходимость расширения регистра типированных доноров костного мозга в РФ, но не только количественно, но и увеличения этнического разнообразия. В 2018 г. 70% алло-ТГСК от неродственных доноров выполнено в НМИЦ гематологии от доноров из РФ, что демонстрирует эффективность работы системы поиска и активации неродственных доноров, а также приверженность врачей, отдающих предпочтение отечественным донорам. В то же время для 12% российских больных не удается найти донора ни в российском, ни в международном регистре, что может быть решено в случае пополнения российского регистра донорами различных этнических групп или проведением гапло-ТГСК.

Литература

1. Савченко В.Г., Любимова Л.С., Паровичникова Е.Н. и др. Трансплантация аллогенных и аутологичных гемопоэтических стволовых клеток при острых лейкозах (итоги 20-летнего опыта). Терапевтический архив. 2007; 7: 30–5.
2. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. Москва: Медицинское информационное агентство; 2003. 912 с.
3. Афанасьев Б.В., Зубаровская Л.С. Роль трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в терапии взрослых больных острыми лейкозами. Онкогематология. 2006; 1–2: 70–85.
4. Apperley J., Carreras E., Gluckman E., editor. The 2012 revised edition of the EBMT-ESH Handbook on Haematopoietic Stem Cell Transplantation. 6th ed. forum service editore; 2012. 683 p.

References

1. Savchenko V.G., Lubimova L.S., Parovichnikova E.N. et al. Allogenic and autologous hematopoietic stem cells transplantation in patients with acute leukemia (results of 20 years old experience). Terapevticheskiy arkhiv. 2007; 7: 30–5 (In Russian).
2. Rumyanцев A.G., Maschan A.A. Hematopoietic stem cells transplantation in children. Moscow: Medical information agency; 2003. 912 p. (In Russian).
3. Afanas'ev B.V., Zubarovskaya L.S. The role of hematopoietic stem cells transplantation in adults with acute leukemia. Onkogematologiya. 2006; 1–2: 70–85 (In Russian).
4. Apperley J., Carreras E., Gluckman E., editor. The 2012 revised edition of the EBMT-ESH Handbook on Haematopoietic Stem Cell Transplantation. 6th ed. forum service editore; 2012. 683 p.

5. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P. et al. Use of haploidentical stem cell transplantation continues to increase: the 2015 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant.* 2017; 52(6): 811–7. DOI: 10.1038/bmt.2017.34.
6. Алянский А.Л., О.А. Макаренко, Н.Е. Иванова и др. Развитие регистра неродственных доноров костного мозга в Российской Федерации: опыт НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой. *Российский журнал детской гематологии и онкологии.* 2016; 3(2): 68–74. DOI: 10.17650/2311-1267-2016-3-2-68-74.
7. Оксенойт Г.К., Никитина С.Ю., Агеева Л.И. и др. Здравоохранение в России 2017. *Стат. сб./Росстат. М.;* 2017. 170 с.
8. Rosenmayr A., Pointner-Prager M., Mitterschiffthaler A. et al. What are a patient's current chances of finding a matched unrelated donor? Twenty years' central search experience in a small country. *Bone Marrow Transplant.* 2012; 47(2): 172–80. DOI: 10.1038/bmt.2011.67.
9. Менделеева Л.П., Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н. и др. Анализ трансплантационной активности в РФ за 2018 г. (отчет межрегионального регистра). *Гематология и трансфузиология.* 2020, 65(1) (приложение 1): 180.
10. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P. et al. Is the use of unrelated donor transplantation leveling off in Europe? The 2016 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant.* 2018; 53(9): 1139–48. DOI: 10.1038/s41409-018-0153-1.
11. Хамаганова Е.Г., Кузьмина Е.П., Абдрахимова А.Р. и др. Генетические дистанции по HLA-генам между донорами гемопоэтических стволовых клеток регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России и другими российскими и мировыми популяциями. *Трансфузиология.* 2018; 19(1): 13–26.
12. Müller C.R., Ehninger G., Goldmann S.F. Gene and haplotype frequencies for the loci HLA-A, HLA-B, and HLA-DR based on over 13,000 German blood donors. *Hum Immunol.* 2003; 64(1): 137–51. DOI: 10.1016/S0198-8859(02)00706-1.
13. Furst D., Muller C., Vucinic V. et al. High-resolution HLA matching in hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective collaborative analysis. *Blood.* 2013; 122(18): 3220–9. DOI: 10.1182/blood-2013-02-482547.
14. Morishima Y., Kawase T., Malkki M. et al. Significance of ethnicity in the risk of acute graft-versus-Host disease and leukemia relapse after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013; 19(8): 1197–203. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.05.020.
15. Савченко В.Г. Протоколы трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. М.: Практика; 2020. 320 с.
16. Хамаганова Е.Г., Кузьмина Л.А. Оценка HLA-совместимости и требования к HLA-типированию больного и донора при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология.* 2019; 64(2): 175–87. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-2-175-187.
17. Biderman B. V., Yakutik I.A., Khamaganova E.G. et al. Identification of a novel allele HLA-C*12:138 in Russian patient by haplotype-specific sequence-based typing. *Tissue Antigens.* 2015; 85(6): 513–4. DOI: 10.1111/tan.12549.
18. Carreras E., Dufour C., Mohty M. et al., editors. *The EBMT Handbook.* Cham: Springer International Publishing; 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5.
19. Passweg J.R., Baldomero H., Peters C. et al. Hematopoietic SCT in Europe: data and trends in 2012 with special consideration of pediatric transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014; 49(6): 744–50. DOI: 10.1038/bmt.2014.55.
20. Saito H., Ito M., Kato S. et al. The Japan Marrow Donor Program, 25 years of experience in achieving 20,000 bone marrow transplantations: Organization structure, activity, and financial basis. *Bone Marrow Transplant.* 2018; 53(5): 609–16. DOI: 10.1038/s41409-017-0084-2.
21. Gragert L., Eapen M., Williams E. et al. HLA Match Likelihoods for Hematopoietic Stem-Cell Grafts in the U.S. Registry. *N Engl J Med.* 2014; 371(4): 339–48. DOI: 10.1056/NEJMs1311707.
5. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P. et al. Use of haploidentical stem cell transplantation continues to increase: the 2015 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant.* 2017; 52(6): 811–7. DOI: 10.1038/bmt.2017.34.
6. Alyanskii A.L., Makarenko O.A., Ivanova N.E. et al. Development of donor bone marrow registry in Russian Federation: experience of Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation. *Russkiy Jurnal detskoy Gematologii i onkologii.* 2016; 3(2): 68–74. DOI: 10.17650/2311-1267-2016-3-2-68-74 (In Russian).
7. Okseinoi G.K., Nikitina S.Yu., Areeva L.I. et al. Healthcare in Russia 2017. *Stat. sb./Rosstat. Moscow;* 2017. 170 p. (In Russian).
8. Rosenmayr A., Pointner-Prager M., Mitterschiffthaler A. et al. What are a patient's current chances of finding a matched unrelated donor? Twenty years' central search experience in a small country. *Bone Marrow Transplant.* 2012; 47(2): 172–80. DOI: 10.1038/bmt.2011.67.
9. Mendeleeva L.P., Savchenko V.G., Parovichnikova E.N. et al. Analysis of transplantation activity in the Russian Federation for 2018 (report of the interregional register). *Gematologiya i Transfusiologiya.* 2020, 65(1)(S1): 180. (In Russian).
10. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P. et al. Is the use of unrelated donor transplantation leveling off in Europe? The 2016 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant.* 2018; 53(9): 1139–48. DOI: 10.1038/s41409-018-0153-1.
11. Khamaganova E.G., Kuzminova E.P., Abdrakhimova A.R. et al. Genetic distances of HLA genes between donors of hematopoietic stem cells of the register National research center for hematology of Russian and world populations. *Transfusiologiya.* 2018; 19(1): 13–26. (In Russian).
12. Müller C.R., Ehninger G., Goldmann S.F. Gene and haplotype frequencies for the loci HLA-A, HLA-B, and HLA-DR based on over 13,000 German blood donors. *Hum Immunol.* 2003; 64(1): 137–51. DOI: 10.1016/S0198-8859(02)00706-1.
13. Furst D., Muller C., Vucinic V. et al. High-resolution HLA matching in hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective collaborative analysis. *Blood.* 2013; 122(18): 3220–9. DOI: 10.1182/blood-2013-02-482547.
14. Morishima Y., Kawase T., Malkki M. et al. Significance of ethnicity in the risk of acute graft-versus-Host disease and leukemia relapse after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013; 19(8): 1197–203. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.05.020.
15. Savchenko V.G. Protocols of allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. Moscow: Practika; 2020. 320 p. (In Russian).
16. Khamaganova E.G., Kuzmina L.A. Assessment of HLA-compatibility and requirements for HLA-typing of patient and donor in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Gematologiya i Transfusiologiya.* 2019; 64 (2): 175–87 DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-2-175-187. (In Russian).
17. Biderman B. V., Yakutik I.A., Khamaganova E.G. et al. Identification of a novel allele HLA-C*12:138 in Russian patient by haplotype-specific sequence-based typing. *Tissue Antigens.* 2015; 85(6): 513–4. DOI: 10.1111/tan.12549.
18. Carreras E., Dufour C., Mohty M. et al., editors. *The EBMT Handbook.* Cham: Springer International Publishing; 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5.
19. Passweg J.R., Baldomero H., Peters C. et al. Hematopoietic SCT in Europe: data and trends in 2012 with special consideration of pediatric transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014; 49(6): 744–50. DOI: 10.1038/bmt.2014.55.
20. Saito H., Ito M., Kato S. et al. The Japan Marrow Donor Program, 25 years of experience in achieving 20,000 bone marrow transplantations: Organization structure, activity, and financial basis. *Bone Marrow Transplant.* 2018; 53(5): 609–16. DOI: 10.1038/s41409-017-0084-2.
21. Gragert L., Eapen M., Williams E. et al. HLA Match Likelihoods for Hematopoietic Stem-Cell Grafts in the U.S. Registry. *N Engl J Med.* 2014; 371(4): 339–48. DOI: 10.1056/NEJMs1311707.

22. Nakasone H., Remberger M., Tian L. et al. Risks and benefits of sex-mismatched hematopoietic cell transplantation differ according to conditioning strategy. *Haematologica*. 2015; 100(11): 1477–85. DOI: 10.3324/haematol.2015.125294.

23. Макаренко О.А., Алянский А.Л., Иванова Н.Е. и др. Эффективность поиска неродственного донора гемопоэтических стволовых клеток с помощью российской поисковой системы Bone Marrow Donor Search: опыт НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой. *Клиническая онкогематология*. 2017; 10(1): 39–4. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-39-44.

Информация об авторах

Васильева Вера Алексеевна*, кандидат медицинских наук, заведующая отделением иммунохимиотерапии с дневным стационаром для больных после ТКМ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: vasilievava4@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0904-7385>

Кузьмина Лариса Анатольевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: kuzlara@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Паровичникова Елена Николаевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и ТКМ ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, e-mail: elenap@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Дроков Михаил Юрьевич, кандидат медицинских наук, руководитель сектора по изучению иммунных воздействий и осложнений после ТКМ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: mdrokov@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9431-8316>

Дмитрова Анна Александровна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.admitrova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2198-4331>

Старикова Ольга Станиславовна, врач-ординатор отделения интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: olga.starikova.1994@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8158-8210>

22. Nakasone H., Remberger M., Tian L. et al. Risks and benefits of sex-mismatched hematopoietic cell transplantation differ according to conditioning strategy. *Haematologica*. 2015; 100(11): 1477–85. DOI: 10.3324/haematol.2015.125294.

23. Makarenko O.A., Alyanskii A.L., Ivanova N.E. et al. The efficacy of the searching of unrelated donor of hematopoietic stem cells by using the Russian search system Bone Marrow Donor Search: experience of the Scientific Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation R.M. Gorbacheva. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2017; 10(1): 39–4. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-39-44. (In Russian).

Information about the authors

Vera A. Vasilyeva*, Cand. Sci. (Med.), Head of Immunochemotherapy Department for Patients after BMT, National Research Center for Hematology, e-mail: vasilievava4@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0904-7385>

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.), Head of Intensive Chemotherapy and BMT Department, National Research Center for Hematology, e-mail: kuzlara@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Elena N. Parovichnikova, Dr. Sci. (Med.), Head of Department of Chemotherapy Hemoblastosis, Hematopoiesis Depression and BMT, National Research Center for Hematology, e-mail: elenap@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Mikhail Yu. Drovkov, Cand. Sci. (Med.), Head of Sector for the Study of Immune Effects and Complications after BMT, National Research Center for Hematology, e-mail: mdrokov@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9431-8316>

Anna A. Dmitrova, Physician, Intensive chemotherapy and BMT Department, National Research Center for Hematology, e-mail: dr.admitrova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2198-4331>

Olga S. Starikova, Physician, Intensive Chemotherapy and BMT Department, National Research Center for Hematology, e-mail: olga.starikova.1994@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8158-8210>

Хамаганова Екатерина Георгиевна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией тканевого типирования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: ekhamag@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0110-3314>

Бидерман Белла Вениаминовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: bella_biderman@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Ахремцова Александра Андреевна, ведущий специалист по работе с донорами отделения переливания крови ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: donors@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5866-4438>

Гапонова Татьяна Владимировна, кандидат медицинских наук, заместитель Генерального директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по трансфузиологии, заведующий отделом процессинга клеток крови и криоконсервирования,
e-mail: gaponova.tatj@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9684-5045>

Менделеева Лариса Павловна, профессор, доктор медицинских наук, заместитель генерального директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по научной работе и инновациям,
e-mail: mendeleeva.l@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4966-8146>

Савченко Валерий Григорьевич, профессор, доктор медицинских наук, акад. РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: director@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 29.09.2019

Принята к печати: 23.12.2019

Ekaterina G. Khamaganova, Dr. Sci. (Biol.), Head of HLA-laboratory, National Research Center for Hematology,
e-mail: ekhamag@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0110-3314>

Bella V. Biderman, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Hematology National Research Center for Hematology,
e-mail: bella_biderman@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Alexandra A. Akhremtsova, Physician of Blood Transfusion and Donor Department, National Research Center for Hematology,
e-mail: donors@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5866-4438>

Tatyana V. Gaponova, Cand. Sci. (Med.), Deputy CEO in Transfusiology, Head of Department of Cell Processing and Cryopreservation, National Research Center for Hematology,
e-mail: gaponova.tatj@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9684-5045>

Larisa P. Mendeleeva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy CEO, National Research Center for Hematology,
e-mail: mendeleeva.l@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4966-8146>

Valeriy G. Savchenko, Academician of the RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., CEO of the National Research Center for Hematology,
e-mail: director@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

*** Corresponding author**

Received 29 Sep 2019

Accepted 23 Dec 2019

РЕПЕРТУАР *HLA*-АЛЛЕЛЕЙ У РОССИЙСКИХ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ПРОГНОЗОМ

Бидерман Б. В.^{*}, Ликольд Е. Б., Абдрахимова А. Р., Леонов Е. А., Хамаганова Е. Г., Судариков А. Б.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Неблагоприятный прогноз при хроническом лимфоцитарном лейкозе (ХЛЛ) ассоциирован с немутированным статусом перестроенных генов *IGHV*. Для ХЛЛ характерно также сужение репертуара генов *IGHV* и формирование квазиидентичных (стереотипных) рецепторов, что, вероятно, связано с антигенной селекцией опухолевого В-клеточного клона в патогенезе заболевания. *HLA* фенотип играет важную роль в антигенной селекции В-клеток. С другой стороны, известны случаи ассоциации специфических *HLA*-аллелей с различными заболеваниями.

Цель — изучить репертуар *HLA*-аллелей у больных ХЛЛ с немутированными генами *IGHV* и наиболее распространенными стереотипными рецепторами (САР).

Материалы и методы. В исследование был включен материал, полученный от 100 больных ХЛЛ с немутированными *IGHV*-генами: 50 больных имели наиболее распространенные САР, у остальных рецепторы не были стереотипными. В качестве контроля была выбрана группа здоровых доноров.

Результаты. Обнаружены различия в репертуаре *HLA*-аллелей между двумя группами больных и здоровыми донорами. *HLA-A*33* значительно преобладал у больных без стереотипии рецепторов (группа 1) по сравнению с донорами, у больных с САР (группа 2) эти аллели не обнаружены. В локусе *HLA-B* группа аллелей *B*18* встречалась в группе 2 существенно чаще, чем у доноров и в группе 1. *HLA-B*39* значительно преобладал у группы 1 по сравнению с донорами, у группы 2 эти аллели не обнаружены. Для всех больных частота встречаемости аллелей *HLA-B*52* выше, чем у доноров. В локусе *HLA-C* у больных ХЛЛ чаще встречалась аллельная группа *C*12*, чем у доноров. *HLA-DRB1*15* у больных группы 2 представлена вдвое чаще, чем у доноров и группы 1, *HLA-DRB1*13* — вдвое реже. *HLA-DRB1*16* существенно чаще наблюдалась в группе 1 по сравнению с донорами и группой 2.

Заключение. Обнаружена ассоциация двух *HLA*-аллелей с ХЛЛ с немутированными генами *IGHV* и еще двух с ХЛЛ с прогностически неблагоприятными САР. *HLA* типирование расширенных выборок больных ХЛЛ с разным прогнозом и течением заболевания позволит развить представления о механизмах антигенной селекции в патогенезе ХЛЛ и усовершенствовать методы диагностики и терапии.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, *IGHV*, стереотипные антигенные рецепторы, *HLA*

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Бидерман Б.В., Ликольд Е.Б., Абдрахимова А.Р., Леонов Е.А., Хамаганова Е.Г., Судариков А.Б. Репертуар *HLA*-аллелей у российских больных хроническим лимфолейкозом с неблагоприятным прогнозом. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(3): 312–320. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-312-320>

HLA ALLELE REPERTOIRE IN RUSSIAN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA PATIENTS WITH AN UNFAVORABLE PROGNOSIS

Biderman B. V.^{*}, Likold E. B., Abdrakhimova A. R., Leonov E. A., Khamaganova E. G., Sudarikov A. B.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. An unfavorable prognosis in chronic lymphocytic leukemia (CLL) is associated with unmutated status of rearranged *IGHV* genes. CLL is also characterized by a narrowing of the repertoire of *IGHV* genes and the formation of quasi-identical (stereotyped) receptors, which is probably associated with antigenic selection of the tumor B-cell clone in the pathogenesis of the disease. The HLA phenotype plays an important role in antigenic selection of B cells. On the other hand, the association of specific HLA alleles with various diseases has been described.

Aim. To assess the frequencies of HLA alleles in CLL patients with unmutated *IGHV* genes and the most common stereotyped receptors (SARs).

Materials and methods. The study included 100 CLL patients with unmutated *IGHV* genes - 50 with the most common stereotyped antigen receptors (SARs) and 50 with non-stereotyped antigenic receptors. Control group of healthy donors was also included.

Results. Significant differences in HLA-allele repertoire between this two groups of patients and groups of donors were found. B*18 allele group was found much more common in patients with SARs than in donors and in patients without SARs. HLA-B*39 was more frequent for patients with SARs compared to donors; in patients without SARs these alleles were not found. For all patients, the frequency of HLA-B*52 alleles was higher than for donors. HLA-C*12 allelic group was found more frequent in CLL patients than in donors. HLA-DRB1*15 in CLL patients with SARs was found twice as often as in healthy donors or patients without SARs, while HLA-DRB1*13, oppositely, was found twice as rare. HLA-DRB1*16 was significantly more frequent in patients without SARs, compared with donors and the patients with SARs. No significant differences were found in the HLA-A and HLA-DQB1 loci.

Conclusion. The association of two HLA alleles with "unmutated" CLL and two others with CLL bearing prognostically unfavorable SARs was found. HLA typing of expanded samples of CLL patients with different prognosis and course of the disease will provide more information on the mechanisms of antigen selection in the pathogenesis of CLL and improve diagnostic and therapeutic approaches.

Keywords: CLL, *IGHV*, stereotyped antigen receptors, HLA

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Biderman B.V., Likold E.B., Abdrakhimova A.R., Leonov E.A., Khamaganova E.G., Sudarikov A.B. HLA allele repertoire in Russian chronic lymphocytic leukemia patients with an unfavorable prognosis. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2020; 65(3): 312–320 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-312-320>

Введение

Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) — одно из наиболее распространенных лимфопролиферативных заболеваний в Европе и США, характеризующееся гетерогенностью течения [1]. Мутационный статус генов варибельного региона тяжелой цепи иммуноглобулинов (*IGHV*) известен как важный фактор долгосрочного прогноза при ХЛЛ [2, 3]. Кроме того, разнообразие вариантов структуры перестроенного гена *IGHV* опухолевых клеток при ХЛЛ весьма ограничено и существенно отличается от такового для нормальных В-клеток [4, 5]. Около 30% всех случаев ХЛЛ имеют гены иммуноглобулиновых рецепторов с очень схожими нуклеотидными последовательностями [6, 7]. Такие квазиидентичные рецепторы называют стереотипными. Всего описано более 200 подгрупп стереотипных антигенных рецепторов (САР). Больные с 20 наиболее распространенными САР составляют более 12% от всей популяции больных ХЛЛ [7]. Подавляющее большинство САР формируется с участием немутированных генов *IGHV* (преимущественно 1-го семейства) и ассоциируется с особо агрессивным течением заболевания [8]. Для разного типа подобных стереотипных рецепторов характерны разные комбинации крайне неблагоприятных мутаций в генах *TP53*, *NOTCH1* и других, играющих важную роль в онкогенезе [9]. Эти факты являются важными аргументами в пользу того, что в селекции опухолевых клеток ХЛЛ на ранних стадиях болезни участвуют определенные антигены (вирусного/бактериального происхождения, аутоантигены апоптотических клеток). Также вероятно, что после трансформации клона антигенная стимуляция клеток не утрачивает значения и вместе с другими факторами определяет характеристики злокачественного клона и прогноз заболевания. В то же время известно, что в разных географических регионах преимущественно используемые *IGHV*-гены, а также соотношения мутированных и немутированных вариантов ХЛЛ различны [10–14]. Эти различия могут быть связаны как с генетической дивергенцией популяций, так и с особенностями географической среды.

HLA-комплекс играет центральную роль в формировании иммунного ответа. *HLA*-полиморфизмы могут влиять на способность иммунной системы идентифицировать злокачественные клетки и уничтожить их [15]. Впервые информация о связи генов *HLA* с заболеванием у человека появилась более 50 лет назад [16, 17]. В литературе описано множество случаев ассоциации специфических *HLA*-аллелей и гаплотипов с различными онкологическими, аутоиммунными и инфекционными заболеваниями [17]. Однако связь *HLA*-генов с развитием ХЛЛ и ассоциации *HLA*-аллелей с различными вариантами данного заболевания изучены недостаточно. Для настоящего исследования в этой

области была выбрана группа больных ХЛЛ с неблагоприятным прогнозом, т.к. для этой группы более характерно сужение репертуара генов *IGHV*, и, по нашему мнению, вероятность обнаружить ассоциации с *HLA*-аллелями (при их наличии) выше.

Цель настоящей работы — изучить репертуар *HLA*-аллелей у больных ХЛЛ с немутированными генами *IGHV* и наиболее распространенными стереотипными рецепторами.

Материалы и методы

Материал. В исследование был включен материал (ДНК) 100 больных ХЛЛ с экспрессией немутированных генов *IGHV* из коллекции ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. У 50 больных рецепторы не были стереотипными (группа 1), остальные 50 больных имели наиболее распространенные стереотипные антигенные рецепторы (САР) (группа 2). Материал больных был направлен из различных регионов РФ для исследования мутационного статуса генов *IGHV* с 2008 г. по 2019 г. В качестве контроля была выбрана группа здоровых доноров — 1507 человек.

Анализ генов *IGHV*. Для определения клональной перестройки ДНК больных амплифицировали в 6 отдельных реакциях с использованием праймеров, специфичных к семействам *IGHV* и консенсусного праймера *IGHJ* [18, 19]. Полученный клональный продукт секвенировали с помощью набора BigDye Terminator v1.1 (ThermoFisher Scientific, USA) на генетических анализаторах ABI3130 (ThermoFisher Scientific, USA) или «Нанофор05» (ФГБУН «ИАП РАН», Россия). Нуклеотидные последовательности анализировали в открытых онлайн-базах данных IgBLAST [20] и IMGT [21]. Если последовательность клонального *IGHV*-гена совпадала с последовательностью одного из герминальных *IGHV*-генов на 98% и более, считали, что данный ген не подвергся соматической гипермутации. Принадлежность к САР определяли с помощью открытой онлайн-программы ARResT/AssignSubsets [22].

***HLA*-типирование** по 5 локусам (*HLA-A*, — *B*, — *C*, — *DRB1*, — *DQB1*) проводили набором Lifecodes HLA SSO typing kits (Immucor, CT, USA) с использованием Luminex 200 system (Luminex, TX, USA).

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программ Arlequin software package, version 3.5 [23]. Достоверность различий определяли с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса.

Результаты

Все больные, включенные в исследование, имели немутированные гены *IGHV*. У 76 больных гомология с герминальным геном составляла 100%, у 24 больных гомология была в диапазоне 98–99,7%. 50 боль-

Таблица 1. IGHV-гены и САР больных ХЛЛ, включенных в исследование
Table 1. IGHV-genes and SAR of CLL patients included in study

| Группа 1 Group 1 | | Группа 2 Group 2 | |
|---------------------|----------------------------------|--|----------------------------------|
| IGHV | Число случаев Number of cases | IGHV и САР IGHV and SAR | Число случаев Number of cases |
| IGHV4-39 | 7 | IGHV1-69 | 25 |
| IGHV3-11 | 5 | IGHV1-2 | 11 |
| IGHV3-74 | 5 | IGHV1-3 | 5 |
| IGHV4-34 | 5 | IGHV1-18 | 2 |
| IGHV3-48 | 4 | IGHV1-8 | 2 |
| IGHV3-23 | 3 | IGHV7-4-1 | 2 |
| IGHV3-33 | 3 | IGHV1-46 | 1 |
| IGHV4-59 | 3 | IGHV5-10-1 | 1 |
| IGHV3-20 | 2 | IGHV5-51 | 1 |
| IGHV3-30 | 2 | CLL#1 (IGHV гены 1,5,7 семейства, кроме IGHV1-69) (IGHV genes families 1,5,7 except IGHV1-69) | 14 |
| IGHV3-13 | 1 | CLL#3 (IGHV1-69) | 9 |
| IGHV3-15 | 1 | CLL#6 (IGHV1-69) | 9 |
| IGHV3-21 | 1 | CLL#12 (гены 1 семейства IGHV) (IGHV genes family 1) | 6 |
| IGHV3-30-3 | 1 | CLL#28A (IGHV1-2) | 4 |
| IGHV3-49 | 1 | CLL#5 (IGHV1-69) | 4 |
| IGHV4-30-4 | 1 | CLL#7H (IGHV1-69) | 4 |
| IGHV4-31 | 1 | | |
| IGHV4-38-2 | 1 | | |
| IGHV4-61 | 1 | | |
| IGHV5-10-1 | 1 | | |
| IGHV5-51 | 1 | | |

ных (группа 1) имели нестереотипные антигенные рецепторы, их IGHV-гены распределялись между 3 (29 случаев), 4 (19 случаев) и 5 (2 случая) семействами (табл. 1). Чаще всего в данной группе встречались гены IGHV4-39, IGHV4-34, IGHV3-74, IGHV3-11, у остальных 50 больных (группа 2) наблюдались наиболее распространенные САР, ассоциированные с более агрессивным течением заболевания по сравнению с нестереотипными случаями немутированного ХЛЛ. Большинство из них относились к 1-му семейству генов IGHV (46 больных, 92%) (табл. 1). Самым частым геном в данной группе был IGHV1-69, он встречался у половины больных.

При изучении общих особенностей репертуара HLA-аллелей у больных ХЛЛ выявлено, что наиболее часто встречались в локусе HLA-A аллельные группы A*02, A*03, A*01. В локусе HLA-B самыми распространенными группами были B*07, B*35, B*18, B*44. Аллельные группы C*12, C*07, C*06 чаще всего встречались у больных ХЛЛ в локусе HLA-C. Среди HLA-генов II класса наиболее распространенными были HLA-DRB1*15,

HLA-DRB1*11, HLA-DRB1*07, HLA-DQB1*03 и HLA-DQB1*05. В большинстве случаев эти аллельные группы также являются наиболее широко распространенными и у здоровых доноров.

Однако были обнаружены и значимые различия в репертуаре HLA-аллелей между двумя группами больных, а также здоровыми донорами (табл. 2). В локусе HLA-A группа аллелей HLA-A*33 встречалась у больных группы 1 достоверно чаще, чем у доноров. В локусе HLA-B значимые различия наблюдались в 3 аллельных группах. B*18 выявляли у больных группы 2 достоверно чаще, чем у доноров и у больных группы 1. HLA-B*39 чаще выявляли у группы 1 по сравнению с донорами; у группы 2 эти аллели обнаружены не были. Для всех больных частота встречаемости аллелей HLA-B*52 была выше, чем у доноров. В локусе HLA-C у больных ХЛЛ чаще встречалась аллельная группа C*12, чем у доноров. В локусе DRB1 наблюдались различия в трех аллельных группах. HLA-DRB1*15 у больных группы 2 выявляли вдвое чаще, чем у здоровых доноров и первой группы, HLA-DRB1*15,

Таблица 2. Различия в репертуаре HLA-аллелей у больных ХЛЛ и у здоровых доноров
Table 2. Differences in HLA-alleles repertoire in CLL patients and healthy donors

| №№ | Группа аллелей/Гаплотипы Allele group/Haplotypes | Здоровые доноры Healthy donors (2n = 3014) | Больные ХЛЛ, группа 1 CLL patients, Group 1 (2n = 100) | Больные ХЛЛ, группа 2 CLL patients, Group 2 (2n = 100) |
|----|---|---|--|--|
| 1 | HLA-A*33 | 0,0024 | 0,02* | 0 |
| 2 | HLA-B*18 | 0,0922 | 0,05 [§] | 0,160* [§] |
| 3 | HLA-B*39 | 0,0232 | 0,06* | 0 |
| 4 | HLA-B*52 | 0,0212 | 0,05 | 0,07** |
| 5 | HLA-C*12 | 0,1408 | 0,22* | 0,19 |
| 6 | HLA-DRB1*13 | 0,1301 | 0,12 | 0,05* |
| 7 | HLA-DRB1*15 | 0,138 | 0,15 | 0,23** |
| 8 | HLA-DRB1*16 | 0,0395 | 0,09* | 0,03 |
| 9 | A*02-B*07-C*07-DRB1*15-DQB1*06 | 0,0139 | 0 | 0,04 |
| 10 | A*25-B*18-C*12-DRB1*15-DQB1*06 | 0,0176 | 0 | 0,04 |

Примечание. 2n — число гаплотипов в группе (n — численность группы); * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ — достоверные различия в частотах у больных и доноров; [§] — $p < 0,05$ — достоверные различия у больных групп 1 и 2.

Note. 2n — number of haplotypes in group (n — size of group); * — $p < 0.05$; ** — $p < 0.01$ significant differences in patients and donors; [§] — $p < 0.05$ — significant differences in patients of groups 1 and 2.

напротив — вдвое реже. *HLA-DRB1*16* существенно чаще наблюдали у больных первой группы по сравнению с донорами и группой 2. В локусе *DQB1* значимых различий обнаружено не было.

Также проведено сравнение по наиболее частым гаплотипам, встречающимся у больных ХЛЛ. Гаплотипы *A*02-B*07-C*07-DRB1*15-DQB1*06* и *A*25-B*18-C*12-DRB1*15-DQB1*06* чаще выявлялись у больных группы 2, чем у доноров, однако эти данные не были статистически значимыми из-за малой выборки.

Кроме того, выявлена существенная разница в частоте гомозиготности аллелей. В локусах *HLA* первого класса у больных группы 2 втрое чаще встречались гомозиготные аллели, чем у больных группы 1.

Обсуждение

Локус *HLA*-генов является наиболее полиморфным в человеческом геноме. Ранее были показаны ассоциации между *HLA*-антигенами и различными заболеваниями, включая неходжкинские лимфомы [24], однако таких работ очень мало, в основном, они посвящены исследованиям очень тяжело протекающих заболеваний. Настоящая работа является первым исследованием репертуара *HLA*-генов у больных ХЛЛ в России.

Авторы ряда исследований высказывали предположения, что гомозиготность *HLA*-аллелей ассоциируется с развитием неходжкинских лимфом [24–26] и прогрессией ХЛЛ [27, 28]. Основная гипотеза заключается в том, что гомозиготность в локусах *HLA* уменьшает разнообразие антигенов, которые могут быть презентированы Т-лимфоцитам. Эта гипотеза подкрепляется более ранними исследованиями, в которых изучалось влияние гомозиготности генов *HLA* на инфекционные заболевания [29–31]. В этих работах отсутствие разнообразия генов *HLA* 1-го и 2-го класса ассоциировалось с повышенным риском инфицирования вирусом гепа-

тита В и ВИЧ. Таким образом, предполагается, что ограничение разнообразия *HLA*-аллелей обеспечивает развивающейся опухоли преимущество в избегании иммунного ответа. Полученные в настоящей работе данные о более высокой частоте гомозиготных аллелей в локусах *HLA* 1-го класса в группе больных с САР, ассоциированных с более агрессивным течением заболевания [8], косвенно подтверждают эту гипотезу.

Несмотря на небольшую выборку, в настоящей работе удалось обнаружить ассоциацию 2 *HLA*-аллелей с ХЛЛ с немутированными генами *IGHV* (*HLA-B*52* и *HLA-C*12*), и еще 2 для ХЛЛ с прогностически неблагоприятными САР (*HLA-B*18* и *HLA-DRB1*15*). Некоторые из этих аллелей ассоциированы с аутоиммунными заболеваниями. Аллель *HLA-DRB1*15* связана с повышенным риском развития рассеянного склероза, *HLA-B*52* ассоциируется с артериитом Такаюсу [17, 32]. Кроме того, наблюдаются некоторые различия в репертуаре *HLA*-аллелей у больных с экспрессией генов *IGHV* из разных семейств. Обнаружено, что *HLA-B*18* втрое реже встречается у больных с экспрессией 3-го и 4-го семейств *IGHV*, чем первого семейства, а *HLA-DRB1*13* и *HLA-DRB1*15* — вдвое реже. *HLA-DRB1*16*, наоборот, втрое чаще распространен у больных с 3-м и 4-м семействами *IGHV* по сравнению с первым семейством. Аллель *HLA-B*39* не была обнаружена в группе с САР.

Наши данные расходятся с данными исследователей из США и Великобритании и частично совпадают с результатами иранских ученых. В работе L. Gragert и соавт. показано, что у американцев, принадлежащих к белой расе, аллели *HLA-A*02:01*, *HLA-C*05:01*, *HLA-C*07:01*, *HLA-C*16:02*, *HLA-B*14:01*, *HLA-B*15:01*, *HLA-DRB1*04:01*, *HLA-DRB1*04:02*, *HLA-DRB1*07:01*, *HLA-DRB1*08:01*, *HLA-DQB1*03:02*, *HLA-DQB1*03:03*, *HLA-DQB1*04:02* и *HLA-DQB1*05:04* ассо-

цированы с ХЛЛ [27]. По данным Di Bernardo M. С. и соавт. [33], таковыми являются *HLA-A*02:01*, *HLA-A*31:01*, *HLA-B*14:01*, *HLA-C*08:02*, *DRB1*11:01*. Ни один из указанных аллелей не встречался в группах, проанализированных нами. По данным иранских исследователей, в локусе *HLA-A* также наиболее распространенной и предиктивной является аллель *HLA-A*02:01* [34]. Однако в локусе *HLA-B* значительно чаще, чем у здоровых доноров, у больных ХЛЛ встречались *HLA-B*18:01* и *HLA-B*52:01*, как и в выборке в нашем исследовании. При этом наиболее распространенной и предиктивной для иранских больных в данном локусе являлся аллель *HLA-B*35:01*. В российской выборке группа *HLA-B*35* являлась второй по частоте как для больных ХЛЛ, так и для здоровых доноров.

Полученные расхождения возможно объяснить несколькими причинами. Известно, что в различных популяциях частота использования *HLA*-аллелей

и *HLA*-гаплотипов различна [35–37]. Также существуют определенные географические особенности репертуара генов *IGHV*, и, как следствие, *САР*. Например, ген *IGHV1–69* встречается примерно у 20% российских больных ХЛЛ, значительно реже в Северной и Южной Европе (10–14%) и практически отсутствует у больных в Иране [11, 38, 39]. При этом в России данный ген встречается почти всегда в немутированном варианте и является частью нескольких *САР*, ассоциированных с агрессивным течением заболевания. Кроме того, мы изучали малые селектированные выборки — все больные имели немутированные *IGHV*-гены, половина относилась к когорте с прогностически наиболее неблагоприятными *САР*. Исследование неселектированных выборок больных ХЛЛ существенно большего размера, вероятно, позволит найти новые ассоциации *HLA*-аллелей с течением заболевания. Также важно дальнейшее изучение влияния гомозиготности *HLA*-аллелей на течение ХЛЛ.

Литература

1. Agathangelidis A., Sutton L.A., Hadzidimitriou et al. Immunoglobulin Gene Sequence Analysis In Chronic Lymphocytic Leukemia: From Patient Material To Sequence Interpretation. *J Vis Exp.* 2018; 141: e57787. DOI: 10.3791/57787.
2. Damle R.N., Wasil T., Fais F. et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1999; 94: 1840–7.
3. Hamblin T.J., Davis Z., Gardiner A. et al. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1999; 94: 1848–54.
4. Fais F., Ghiotto F., Hashimoto S. et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. *J Clin Invest.* 1998; 102(8): 1515–25. DOI: 10.1172/JCI3009.
5. Tobin G., Thunberg U., Johnson A. et al. Somatically mutated Ig V(H)3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2002; 99: 2262–4. DOI: 10.1182/blood.v99.6.2262.
6. Stamatopoulos K., Belessi C., Moreno C. et al. Over 20 % of patients with chronic lymphocytic leukemia carry stereotyped receptors: pathogenetic implications and clinical correlations. *Blood.* 2007; 109: 259–70. DOI: 10.1182/blood-2006-03-012948.
7. Darzentas N., Stamatopoulos K. The significance of stereotyped B-cell receptors in chronic lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2013; 27(2): 237–50. DOI: 10.1016/j.hoc.2012.12.001.
8. Baliakas P., Hadzidimitriou A., Sutton L.A. et al. Clinical effect of stereotyped B-cell receptor immunoglobulins in chronic lymphocytic leukaemia: a retrospective multicentre study. *Lancet Haematol.* 2014; 1(2): 74–84. DOI: 10.1016/S2352-3026(14)00005-2.
9. Agathangelidis A., Darzentas N., Hadzidimitriou A. et al. Stereotyped B-cell receptors in one-third of chronic lymphocytic leukemia: a molecular classification with implications for targeted therapies. *Blood.* 2012; 119(19): 4467–75. DOI: 10.1182/blood-2011-11-393694.
10. Ghia P., Stamatopoulos K., Belessi C. et al. Geographic patterns and pathogenetic implications of *IGHV* gene usage in chronic lymphocytic leukemia: the lesson of the *IGHV3-21* gene. *Blood.* 2005; 105: 1678–85. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2606.

References

1. Agathangelidis A., Sutton L.A., Hadzidimitriou et al. Immunoglobulin Gene Sequence Analysis In Chronic Lymphocytic Leukemia: From Patient Material To Sequence Interpretation. *J Vis Exp.* 2018; 141: e57787. DOI: 10.3791/57787.
2. Damle R.N., Wasil T., Fais F. et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1999; 94: 1840–7.
3. Hamblin T.J., Davis Z., Gardiner A. et al. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1999; 94: 1848–54.
4. Fais F., Ghiotto F., Hashimoto S. et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. *J Clin Invest.* 1998; 102(8): 1515–25. DOI: 10.1172/JCI3009.
5. Tobin G., Thunberg U., Johnson A. et al. Somatically mutated Ig V(H)3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2002; 99: 2262–4. DOI: 10.1182/blood.v99.6.2262.
6. Stamatopoulos K., Belessi C., Moreno C. et al. Over 20 % of patients with chronic lymphocytic leukemia carry stereotyped receptors: pathogenetic implications and clinical correlations. *Blood.* 2007; 109: 259–70. DOI: 10.1182/blood-2006-03-012948.
7. Darzentas N., Stamatopoulos K. The significance of stereotyped B-cell receptors in chronic lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2013; 27(2): 237–50. DOI: 10.1016/j.hoc.2012.12.001.
8. Baliakas P., Hadzidimitriou A., Sutton L.A. et al. Clinical effect of stereotyped B-cell receptor immunoglobulins in chronic lymphocytic leukaemia: a retrospective multicentre study. *Lancet Haematol.* 2014; 1(2): 74–84. DOI: 10.1016/S2352-3026(14)00005-2.
9. Agathangelidis A., Darzentas N., Hadzidimitriou A. et al. Stereotyped B-cell receptors in one-third of chronic lymphocytic leukemia: a molecular classification with implications for targeted therapies. *Blood.* 2012; 119(19): 4467–75. DOI: 10.1182/blood-2011-11-393694.
10. Ghia P., Stamatopoulos K., Belessi C. et al. Geographic patterns and pathogenetic implications of *IGHV* gene usage in chronic lymphocytic leukemia: the lesson of the *IGHV3-21* gene. *Blood.* 2005; 105: 1678–85. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2606.

11. Tobin G., Thunberg U., Karlsson K. et al. Subsets with restricted immunoglobulin gene rearrangement features indicate a role for antigen selection in the development of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2004; 104: 2879–85. DOI: 10.1182/blood-2004-01-0132.
12. Бидерман Б.В., Никитин Е.А., Сергиенко Т.Ф. и др. Репертуар генов тяжелой цепи иммуноглобулинов при В-клеточном хроническом лимфолейкозе в России и Беларуси. *Онкогематология*. 2012; 7(3): 38–43.
13. Kryachok I., Abramenko I., Bilous N. et al. IGHV gene rearrangements as outcome predictors for CLL patients: experience of Ukrainian group. *Med Oncol*. 2012; 29(2): 1093–101. DOI: 10.1007/s12032-011-9872-5.
14. Falchi L., Keating M.J., Wang X. et al. Clinical characteristics, response to therapy, and survival of African American patients diagnosed with chronic lymphocytic leukemia: joint experience of the MD Anderson Cancer Center and Duke University Medical Center. *Cancer*. 2013; 119(17): 3177–85. DOI: 10.1002/cncr.28030.
15. Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*. 2004; 21(2): 137–48. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.07.017.
16. Amiel J. Study of the leukocyte phenotypes in Hodgkin's disease. *Histocompatibility Testing*. 1967; 79–81.
17. Dendrou C.A., Petersen J., Rossjohn J. et al. HLA variation and disease. *Nat Rev Immunol*. 2018; 18(5): 325–39. DOI: 10.1038/nri.2017.143.
18. Campbell M.J., Zelenetz A.D., Levy S., Levy R. Use of family specific leader region primers for PCR amplification of the human heavy chain variable region repertoire. *Mol Immunol*. 1992; 29:193–203. DOI: 10.1016/0161-5890(92)90100-c.
19. van Dongen J.J., Langerak A.W., Bruggemann M. et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003; 17: 2257–317. DOI: 10.1038/sj.leu.2403202.
20. Ye J., Ma N., Madden T.L. et al. IgBLAST: an immunoglobulin variable domain sequence analysis tool. *Nucleic Acids Res*. 2013; 41(Web Server issue): W34–40. DOI: 10.1093/nar/gkt382.
21. Brochet X., Lefranc M.P., Giudicelli V. IMGT/V-QUEST: the highly customized and integrated system for IG and TR standardized V-J and V-D-J sequence analysis. *Nucleic Acids Res*. 2008; 36(Web Server issue): W503–8. DOI: 10.1093/nar/gkn316.
22. Bystry V., Agathangelidis A., Bikos V. et al. ARResT/AssignSubsets: a novel application for robust subclassification of chronic lymphocytic leukemia based on B cell receptor IG stereotypy. *Bioinformatics*. 2015; 31(23): 3844–6. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv456.
23. Excoffier L., Lischer H.E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour*. 2010; 10(3):564-7. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
24. Zhong C., Gragert L., Maiers M. et al. The association between HLA and non-Hodgkin lymphoma subtypes, among a transplant-indicated population. *Leuk Lymphoma*. 2019; 60(12): 2899–908. DOI: 10.1080/10428194.2019.1617858.
25. Shah N., Decker W.K., Lapushin R. et al. HLA homozygosity and haplotype bias among patients with chronic lymphocytic leukemia: implications for disease control by physiological immune surveillance. *Leukemia*. 2011; 25(6): 1036–9. DOI: 10.1038/leu.2011.30.
26. Wang S.S., Carrington M., Berndt S.I. et al. HLA Class I and II Diversity Contributes to the Etiologic Heterogeneity of Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes. *Cancer Res*. 2018; 78(14): 4086–96. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2900.
11. Tobin G., Thunberg U., Karlsson K. et al. Subsets with restricted immunoglobulin gene rearrangement features indicate a role for antigen selection in the development of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2004; 104: 2879–85. DOI: 10.1182/blood-2004-01-0132.
12. Biderman B.V., Nikitin E.A., Sergienko T.F. et al. Heavy chain immunoglobulin genes repertoire in B-cell chronic lymphocytic leukemia in Russia and Belarus. *Oncohematologiya*. 2012; 7(3):38–43. (In Russian).
13. Kryachok I., Abramenko I., Bilous N. et al. IGHV gene rearrangements as outcome predictors for CLL patients: experience of Ukrainian group. *Med Oncol*. 2012; 29(2): 1093–101. DOI: 10.1007/s12032-011-9872-5.
14. Falchi L., Keating M.J., Wang X. et al. Clinical characteristics, response to therapy, and survival of African American patients diagnosed with chronic lymphocytic leukemia: joint experience of the MD Anderson Cancer Center and Duke University Medical Center. *Cancer*. 2013; 119(17): 3177–85. DOI: 10.1002/cncr.28030.
15. Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*. 2004; 21(2): 137–48. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.07.017.
16. Amiel J. Study of the leukocyte phenotypes in Hodgkin's disease. *Histocompatibility Testing*. 1967; 79–81.
17. Dendrou C.A., Petersen J., Rossjohn J. et al. HLA variation and disease. *Nat Rev Immunol*. 2018; 18(5): 325–39. DOI: 10.1038/nri.2017.143.
18. Campbell M.J., Zelenetz A.D., Levy S., Levy R. Use of family specific leader region primers for PCR amplification of the human heavy chain variable region repertoire. *Mol Immunol*. 1992; 29:193–203. DOI: 10.1016/0161-5890(92)90100-c.
19. van Dongen J.J., Langerak A.W., Bruggemann M. et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003; 17: 2257–317. DOI: 10.1038/sj.leu.2403202.
20. Ye J., Ma N., Madden T.L. et al. IgBLAST: an immunoglobulin variable domain sequence analysis tool. *Nucleic Acids Res*. 2013; 41(Web Server issue): W34–40. DOI: 10.1093/nar/gkt382.
21. Brochet X., Lefranc M.P., Giudicelli V. IMGT/V-QUEST: the highly customized and integrated system for IG and TR standardized V-J and V-D-J sequence analysis. *Nucleic Acids Res*. 2008; 36(Web Server issue): W503–8. DOI: 10.1093/nar/gkn316.
22. Bystry V., Agathangelidis A., Bikos V. et al. ARResT/AssignSubsets: a novel application for robust subclassification of chronic lymphocytic leukemia based on B cell receptor IG stereotypy. *Bioinformatics*. 2015; 31(23): 3844–6. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv456.
23. Excoffier L., Lischer H.E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour*. 2010; 10(3):564-7. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
24. Zhong C., Gragert L., Maiers M. et al. The association between HLA and non-Hodgkin lymphoma subtypes, among a transplant-indicated population. *Leuk Lymphoma*. 2019; 60(12): 2899–908. DOI: 10.1080/10428194.2019.1617858.
25. Shah N., Decker W.K., Lapushin R. et al. HLA homozygosity and haplotype bias among patients with chronic lymphocytic leukemia: implications for disease control by physiological immune surveillance. *Leukemia*. 2011; 25(6): 1036–9. DOI: 10.1038/leu.2011.30.
26. Wang S.S., Carrington M., Berndt S.I. et al. HLA Class I and II Diversity Contributes to the Etiologic Heterogeneity of Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes. *Cancer Res*. 2018; 78(14): 4086–96. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2900.

27. Gragert L, Fingerson S, Albrecht M. et al. Finemapping of HLA associations with chronic lymphocytic leukemia in US populations. *Blood*. 2014; 124(17): 2657–65. DOI: 10.1182/blood.2014.02.558767.
28. Guillaume N, Marolleau J.P. Is immune escape via human leukocyte antigen expression clinically relevant in chronic lymphocytic leukemia? Focus on the controversies. *Leuk Res*. 2013; 37(4): 473–7. DOI: 10.1016/j.leukres.2012.12.021.
29. Thursz M.R., Thomas H.C., Greenwood B.M., Hill A.V. Heterozygote advantage for HLA class-II type in hepatitis B virus infection. *Nat Genet*. 1997; 17: 11–2.
30. Penn D.J., Damjanovich K., Potts W.K. MHC heterozygosity confers a selective advantage against multiple-strain infections. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 11260–4. DOI: 10.1073/pnas.162006499.
31. Thio C.L., Thomas D.L., Karacki P. et al. Comprehensive analysis of class I and class II HLA antigens and chronic hepatitis B virus infection. *J Virol*. 2003; 77(22): 12083–7. DOI: 10.1128/JVI.77.22.12083-12087.2003.
32. Renauer P, Sawalha A.H. The genetics of Takayasu arteritis. *Presse Med*. 2017; 46(7–8; 2): e179–e187. DOI: 10.1016/j.lpm.2016.11.031.
33. Di Bernardo M.C., Broderick P, Harris S. et al. Risk of developing chronic lymphocytic leukemia is influenced by HLA-A class I variation. *Leukemia*. 2013; 27(1): 255–8. DOI: 10.1038/leu.2012.173.
34. Hojjat-Farsangi M., Razavi S.M., Sharifian R.A. et al. Frequency analysis of HLA class I alleles in Iranian patients with progressive and non-progressive chronic lymphocytic leukemia. *Hum Immunol*. 2014; 75(2): 170–5. DOI: 10.1016/j.humimm.2013.11.003.
35. Хамаганова Е.Г., Кузьминова Е.П., Чапова Р.С. и др. HLA-A*/B*C*/DRB1*/DQB1*-гены и гаплотипы у доноров костного мозга регистра ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, самоопределившихся как русские. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(2): 65–70. DOI: 10.18821/0234-5730-2017-62-2-65-70.
36. Bubnova L.N., Zaitseva G.A., Erokhina L.V. et al. A comparative study of HLA-A and HLA-B antigens and haplotype distribution among donors of hematopoietic stem cells from Russian and German regions. *Cellular Therapy and Transplantation*. 2008; 1(1): 28–34 DOI: 10.3205/ctt2008-05-28-001-en.
37. Gragert L, Madbouly A., Freeman J., Maiers M. Six-locus high resolution HLA haplotype frequencies derived from mixed-resolution DNA typing for the entire US donor registry. *Hum. Immunol*. 2013; 74(10): 1313–20. DOI: 10.1016/j.humimm.2013.06.025.
38. Farsangi M.H., Jeddi-Tehrani M., Sharifian R.A. et al. Analysis of the immunoglobulin heavy chain variable region gene expression in Iranian patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2007; 48: 109–16. DOI: 10.1080/10428190601043310.
39. Biderman B.V., Dzhulakyan U.L., Koroleva D. et al. Stereotype antigen receptors in B-cell lymphoproliferative diseases. *HemaSphere*. 2019; 3(S1): 854.
27. Gragert L, Fingerson S, Albrecht M. et al. Finemapping of HLA associations with chronic lymphocytic leukemia in US populations. *Blood*. 2014; 124(17): 2657–65. DOI: 10.1182/blood.2014.02.558767.
28. Guillaume N, Marolleau J.P. Is immune escape via human leukocyte antigen expression clinically relevant in chronic lymphocytic leukemia? Focus on the controversies. *Leuk Res*. 2013; 37(4): 473–7. DOI: 10.1016/j.leukres.2012.12.021.
29. Thursz M.R., Thomas H.C., Greenwood B.M., Hill A.V. Heterozygote advantage for HLA class-II type in hepatitis B virus infection. *Nat Genet*. 1997; 17: 11–2.
30. Penn D.J., Damjanovich K., Potts W.K. MHC heterozygosity confers a selective advantage against multiple-strain infections. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 11260–4. DOI: 10.1073/pnas.162006499.
31. Thio C.L., Thomas D.L., Karacki P. et al. Comprehensive analysis of class I and class II HLA antigens and chronic hepatitis B virus infection. *J Virol*. 2003; 77(22): 12083–7. DOI: 10.1128/JVI.77.22.12083-12087.2003.
32. Renauer P, Sawalha A.H. The genetics of Takayasu arteritis. *Presse Med*. 2017; 46(7–8; 2): e179–e187. DOI: 10.1016/j.lpm.2016.11.031.
33. Di Bernardo M.C., Broderick P, Harris S. et al. Risk of developing chronic lymphocytic leukemia is influenced by HLA-A class I variation. *Leukemia*. 2013; 27(1): 255–8. DOI: 10.1038/leu.2012.173.
34. Hojjat-Farsangi M., Razavi S.M., Sharifian R.A. et al. Frequency analysis of HLA class I alleles in Iranian patients with progressive and non-progressive chronic lymphocytic leukemia. *Hum Immunol*. 2014; 75(2): 170–5. DOI: 10.1016/j.humimm.2013.11.003.
35. Khamaganova E.G., Kuzminova E.P., Chapova R.S. et al. HLA-A*/B*C*/DRB1*/DQB1*-GENES and haplotypes in self-assessment as the Russian donors of bone marrow registry (National Research Center for Hematology). *Gematologiya i transfusiologiya*. 2017; 62(2): 65–70. DOI: 10.18821/0234-5730-2017-62-2-65-70. (In Russian).
36. Bubnova L.N., Zaitseva G.A., Erokhina L.V. et al. A comparative study of HLA-A and HLA-B antigens and haplotype distribution among donors of hematopoietic stem cells from Russian and German regions. *Cellular Therapy and Transplantation*. 2008; 1(1): 28–34 DOI: 10.3205/ctt2008-05-28-001-en.
37. Gragert L, Madbouly A., Freeman J., Maiers M. Six-locus high resolution HLA haplotype frequencies derived from mixed-resolution DNA typing for the entire US donor registry. *Hum. Immunol*. 2013; 74(10): 1313–20. DOI: 10.1016/j.humimm.2013.06.025.
38. Farsangi M.H., Jeddi-Tehrani M., Sharifian R.A. et al. Analysis of the immunoglobulin heavy chain variable region gene expression in Iranian patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2007; 48: 109–16. DOI: 10.1080/10428190601043310.
39. Biderman B.V., Dzhulakyan U.L., Koroleva D. et al. Stereotype antigen receptors in B-cell lymphoproliferative diseases. *HemaSphere*. 2019; 3(S1): 854.

Информация об авторах

Бидерман Белла Вениаминовна*, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: bella_biderman@mail.ru; тел. +7 (916) 101-69-58
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Ликольд Екатерина Борисовна, инженер-биотехнолог лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: ekaterina_likold@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0422-6608>

Абдрахимова Алена Руслановна, научный сотрудник лаборатории тканевого типирования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: abdrakhimova.a@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2840-0888>

Леонов Евгений Андреевич, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории тканевого типирования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: leonov.evgeny.kld@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1955-4997>

Хамаганова Екатерина Георгиевна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией тканевого типирования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: ekhamag@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0110-3314>

Судариков Андрей Борисович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dusha@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 24.04.2020

Принята к печати: 27.07.2020

Information about the authors

Bella V. Biderman*, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Department of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology, e-mail: bella_biderman@mail.ru; tel.: +7 (916) 101-69-58
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Ekaterina B. Likold, Biotechnological Engineer, Department of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology, e-mail: ekaterina_likold@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0422-6608>

Alena R. Abdrakhimova, Research Fellow, Department of Tissue Typing, National Research Center for Hematology, e-mail: abdrakhimova.a@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2840-0888>

Evgeny A. Leonov, Clinical and Laboratory Diagnostics Doctor, Department of Tissue Typing, National Research Center for Hematology, e-mail: leonov.evgeny.kld@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1955-4997>

Ekaterina G. Khamaganova, Dr. Sci. (Biol.), Head of Department of Tissue Typing, National Research Center for Hematology, e-mail: ekhamag@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0110-3314>

Andrey B. Sudarikov, Dr. Sci. (Biol.), Head of Department of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology, e-mail: dusha@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

* Corresponding author

Received 24 Apr 2020

Accepted 27 Jul 2020

СИСТЕМА МЕР, ОБЕСПЕЧИВАЮЩАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ТРАНСФУЗИЙ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ

Тихомиров Д. С., Туполева Т. А., Гуляева А. А., Старкова О. Г., Абакаров Р. Р., Куликов С. М., Гапонова Т. В.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Основными возбудителями инфекций с парентеральным путем передачи являются вирусы иммунодефицита человека 1-го и 2-го типов, а также вирус гепатита В и вирус гепатита С. Невозможность замены донорской крови на синтетические компоненты и широкое распространение инфекций с парентеральным путем передачи обуславливает актуальность повышения безопасности трансфузий.

Цель — описать многокомпонентную систему мониторинга вирусной безопасности трансфузий компонентов донорской крови.

Основные сведения. Система обеспечения безопасности трансфузий крови включает работу с донорскими кадрами, первичный лабораторный и вирусологический скрининг, заготовку, хранение и клиническое использование компонентов донорской крови, мониторинг результатов трансфузий и расследование случаев вероятного инфицирования. Административные меры по отбору доноров среди лиц низкого риска инфицирования повышают безопасность трансфузий еще до донации и этапов лабораторных исследований образцов донорской крови. Необходимым условием повышения безопасности трансфузий является дополнительное исследование образцов крови доноров на антитела к ядерному антигену вируса гепатита В. Описаны алгоритмы проведения расследования случаев первичного появления у реципиентов инфекционных маркеров, ретроспективного расследования в случае выявления маркеров вирусных инфекций у повторного донора, а также мониторинга вирусологического статуса больных заболеваниями системы крови с целью реализации повышения безопасности трансфузий.

Ключевые слова: безопасность трансфузий крови, гемотрансмиссивные инфекции, вирус гепатита В, вирус гепатита С, вирус иммунодефицита человека

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Тихомиров Д.С., Туполева Т.А., Гуляева А.А., Старкова О.Г., Абакаров Р.Р., Куликов С.М., Гапонова Т.В. Система мер, обеспечивающая безопасность трансфузий компонентов крови. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(3): 321–334. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-321-334>

A COMPREHENSIVE MEASURES ENSURING THE SAFETY OF BLOOD COMPONENT TRANSFUSIONS

Tikhomirov D. S.*, Tupoleva T. A., Gulyaeva A. A., Starkova O. G., Abakarov R. R., Kulikov S. M., Gaponova T. V.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Human immunodeficiency virus (HIV), Hepatitis B and C viruses (HBV, HCV) are the major blood-borne infections. Donor blood components cannot be currently replaced with synthetic substitutes, which determines the necessity of improving the viral safety of blood component transfusions.

Aim. To describe a multicomponent system for monitoring the viral safety of donor blood component transfusions.

General findings. Measures ensuring the safety of blood component transfusions include the maintenance of regular communication with donors, pre-donation laboratory tests, viral screening, production, storage and clinical use of blood products, as well as monitoring of blood transfusion results. The selection of donors from low-risk behaviour groups ensures the viral safety of blood transfusion procedures at the initial stages of blood production. A necessary condition for improving the safety of transfusions is additional examination of donor blood samples for antibodies against the hepatitis B core antigen. Algorithms are described for investigating the initial occurrence of infectious markers in blood transfusion recipients, a retrospective investigation in cases where viral infection markers are identified in recurrent donors, as well as for the monitoring of the virological status of patients with blood system disorders. The implementation of these measures can increase the overall safety of blood transfusion.

Keywords: blood transfusion safety, blood-borne infection, hepatitis B, hepatitis C, Human immunodeficiency virus

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Tikhomirov D.S., Tupoleva T.A., Gulyaeva A.A., Starkova O.G., Abakarov R.R., Kulikov S.M., Gaponova T.V. A comprehensive measures ensuring the safety of blood component transfusions. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2020; 65(3): 321–334 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-321-334>

Введение

Неотъемлемыми частями системы безопасности трансфузий являются административные меры по селекции донорских кадров, технологии, повышающие безопасность донорской крови при заготовке, достижения лабораторной диагностики вирусных инфекций, а также обоснованное клиническое применение компонентов. Основными возбудителями инфекций с парентеральным путем передачи являются вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ) 1-го и 2-го типов, а также вирус гепатита В (ВГВ) и вирус гепатита С (ВГС). Почти 40 миллионов человек живет с ВИЧ-инфекцией [1, 2], 248 миллионов — с хронической

ВГВ-инфекцией [3] и 110 миллионов человек имеют антитела к ВГС, из которых у 80 миллионов вирус находится в стадии активной репликации [4]. По сравнению с ВИЧ-инфекцией вирусные гепатиты В и С являются более распространенной инфекцией, в 6,7 и 3 раза, соответственно. ВГВ и ВГС, несмотря на одинаковые клетки-мишени и сходство клинических проявлений инфекций, вызванных этими патогенами, обладают рядом фундаментальных отличий. Это влечет за собой различия в стратегии реализации генетической информации и, соответственно, в патогенезе инфекции как на уровне пораженной клетки, так

и всего организма в целом. Острый гепатит В характеризуется симптомами острого поражения печени и интоксикации, может протекать с желтухой или без нее, отличается многообразием клинических проявлений и исходов заболевания [5]. Острый гепатит С может проявляться общим недомоганием, повышенной утомляемостью, отсутствием аппетита, реже — тошнотой, рвотой, желтухой и сопровождается повышением активности aminотрансфераз сыворотки крови [5]. Хронический гепатит В (ХГВ), как и хронический гепатит С (ХГС), — это длительное воспалительное поражение печени, которое может приводить к циррозу и первичному раку печени. Клинически ХГВ и ХГС проявляются слабостью, общим недомоганием, снижением аппетита, чувством тяжести в правом подреберье, увеличением размеров печени, желтухой, повышением активности aminотрансфераз, однако в большинстве случаев симптомы заболевания слабо выражены. Особый интерес представляют латентные формы заболевания, о чем свидетельствует рост количества публикаций, посвященных латентным ВГВ-и ВГС-инфекциям в базах данных научной литературы с 2000 по 2018 г. (рис. 1).

Впервые латентная ВГВ-инфекция описана в 1978 г., когда у реципиента после переливания крови, содержащей антитела к core-антигену ВГВ (анти-НВс) в отсутствие НВsAg и антител к нему (анти-НВs), развился острый гепатит В [6]. В 2008 г. Европейской ассоциацией по изучению печени (The European Association for the Study of the Liver) было введен термин «латентная ВГВ-инфекция», под которым понималось присутствие ДНК ВГВ в печени, независимо от ее наличия в сыворотке крови, у больных, у которых в крови до-

ступными методами не обнаруживается НВsAg [7]. При стандартном вирусологическом скрининге латентная форма гепатита В у донора крови и ее компонентов может быть не выявлена и компоненты крови, заготовленные от такого донора, могут быть перелиты реципиенту.

Латентная ВГС-инфекция впервые была описана в 2004 г. испанским ученым I. Castillo и соавт. [8], на основании обследования 100 больных с поражением печени и длительными устойчивыми отклонениями в биохимическом анализе крови. У всех больных, включенных в исследование, была выполнена биопсия печени, и в 57% случаев методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с предварительной обратной транскрипцией в ткани печени была обнаружена РНК ВГС. При этом результаты были подтверждены методом гибридизации *in situ*: у 48 из 58 больных в ткани печени была обнаружена минус-цепь вирусной РНК. Поскольку ВГС обладает положительно направленным геномом, факт обнаружения минус-цепи как стадии синтеза вирусной геномной РНК подтверждал наличие вирусной репликации. Латентная форма ВГС-инфекции определяется наличием РНК ВГС в ткани печени и/или мононуклеарных клетках периферической крови при многократных отрицательных результатах выявления в периферической крови анти-ВГС и РНК ВГС и может протекать бессимптомно.

Спектр исследований, которые входят в стандартный скрининг донорской крови, указан в нормативной документации [9], регламентирующей работу службы крови, и включает в себя определение следующих вирусных маркеров: для ВИЧ это комбинированное определение антител и антигена p24/25, для ВГВ — определение

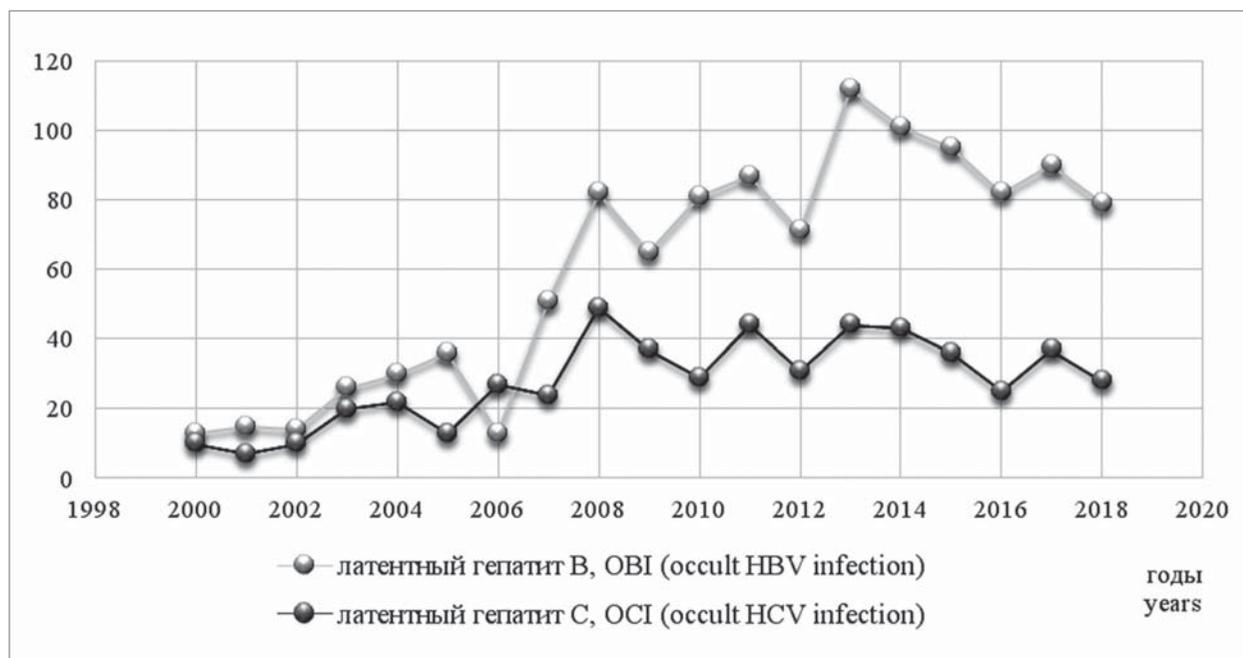


Рисунок 1. Количество публикаций, посвященных латентной ВГВ- и ВГС-инфекции в PubMed с 2000 до 2018 г.

Figure 1. Number of publications on Occult Hepatitis B virus infection and Occult Hepatitis C virus infection in PubMed during 2000–2018

поверхностного антигена (HBsAg), для ВГС — определение суммарных антител (анти-ВГС). Тестирование на наличие нуклеиновых кислот вирусов (РНК ВИЧ, РНК ВГС и ДНК ВГВ) также является обязательным. В отличие от ВИЧ и ВГС, для ВГВ при обследовании доноров определяются антиген и вирусная нуклеиновая кислота, но не определяются антитела, которые являются долгосрочным, а в некоторых случаях — пожизненным свидетельством контакта организма с вирусом в прошлом. Очевидно, что такая схема обследования донора является неполной. Согласно нормативной документации [9], вирусный гепатит в анамнезе является абсолютным противопоказанием к донорству крови и ее компонентов, независимо от давности заболевания и результатов лечения. Таким образом, тестирование на анamnестические антитела как на однозначный факт перенесенного вирусного гепатита В является очевидной необходимостью, требующей пересмотра порядка обследования доноров крови и ее компонентов. Выявление в крови анти-НВс в качестве единственного маркера может являться результатом специфической вакцинации против ВГВ. Антитела к е-антигену ВГВ со временем пропадают из кровотока, поэтому также не могут служить анamnестическим маркером перенесенного гепатита В. Таким образом, из всего спектра антител к ВГВ наиболее перспективными в отношении детекции перенесенного ВГВ являются анти-НВс. Эти антитела вырабатываются в организме в течение 2–3 месяцев после первичного инфицирования и присутствуют в крови пожизненно (рис. 2).

Согласно современным представлениям о патогенезе вирусных гепатитов, после первичного инфициро-

вания элиминации ВГВ из организма не происходит [10]. Вирусный геном сохраняется в гепатоцитах чаще в виде стабилизированной хроматином кольцевой ковалентной замкнутой молекулы ДНК либо в интегрированном в геном хозяина виде, что происходит реже [10]. Вопрос об элиминации ВГС из организма окончательно не решен, поскольку есть данные как в пользу эрадикации вируса после спонтанного выздоровления, так и в пользу сохранения вируса в ткани печени или мононуклеарных клетках крови [11].

Диагностика латентных форм ВГВ- и ВГС-инфекций является необходимым этапом для определенных программ лечения, включающих химиотерапию и/или иммуносупрессивную терапию. При стандартном лабораторном скрининге, часто основанном только на диагностике HBsAg, реже — ДНК ВГВ, латентная форма ВГВ у больного может быть не выявлена. Проведение специфического лечения основного заболевания, включающего применение цитостатических препаратов, моноклональных антител и иммуносупрессоров прямого действия, может провоцировать реактивацию ВГВ и переход инфекции из латентной формы в остро манифестирующую, зачастую вызывающую необходимость прерывания терапии основного заболевания [12, 13]. Проведение адекватного вирусологического скрининга у больного является важным аспектом оказания качественной и эффективной медицинской помощи как при первичном обращении в стационар, так и во время лечения.

Цель настоящей работы — описать многокомпонентную систему мониторинга вирусной безопасности трансфузий компонентов донорской крови.

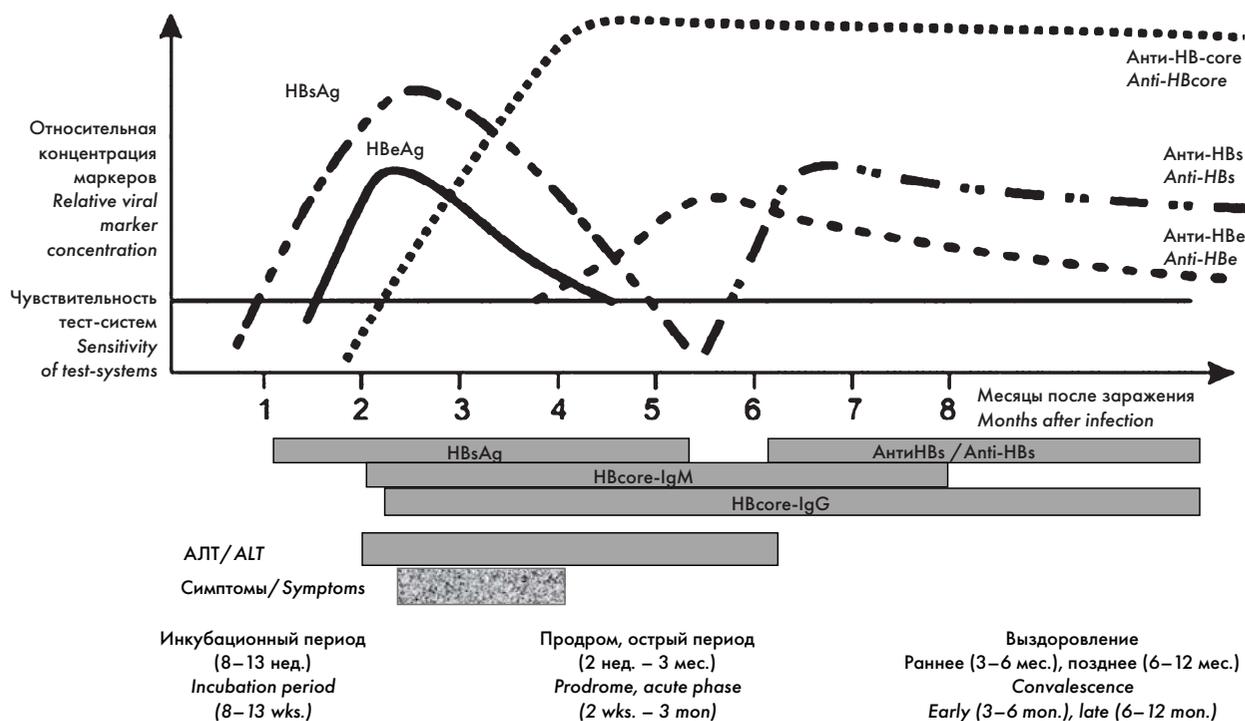


Рисунок 2. Профиль серологических маркеров ВГВ при первичном инфицировании
Figure 2. Profile of HBV serological markers after primary infection

Многокомпонентная система мониторинга вирусной безопасности трансфузий

Разработка системы повышения безопасности трансфузий компонентов донорской крови носит комплексный характер и затрагивает различные этапы, начиная от работы с донорами еще до заготовки компонентов и заканчивая расследованием случаев возможной трансфузионной передачи инфекции. Описывая все этапы, на которых могут быть предприняты меры и системные решения по повышению безопасности, можно условно выделить шесть основных из них, представленных на рисунке 3.

1. Работа с донорскими кадрами, позволяющая повысить инфекционную безопасность трансфузий компонентов донорской крови

Административные меры по отбору доноров среди лиц низкого риска инфицирования являются действенным методом, повышающим безопасность трансфузий еще до лабораторных исследований. К таким мерам относятся: привлечение безвозмездных доноров, разработка политики по созданию комфортных условий на всех этапах прохождения донации (уменьшение очередей, наличие беспроводных сетей в местах ожидания, информирование после донации посредством SMS и/или электронной

почты об отсутствии отклонений в результатах лабораторных исследований и факте клинического использования заготовленных компонентов, что также дополнительно ориентирует доноров на повторный визит). Все указанные меры создают среду для формирования целевой группы повторных доноров, заготовка компонентов от которых является предпочтительной.

2. Первичное клинико-лабораторное исследование крови как часть системы повышения безопасности трансфузий

Первичное клинико-лабораторное исследование проводится до сдачи крови и ее компонентов, а его результаты позволяют не допустить до донации доноров с отклонениями от нормы каких-либо показателей периферической крови. Данные отклонения являются временным противопоказанием к донорству, за исключением повторного повышения сывороточной активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в 2 и более раз. Помимо рутинных исследований, значение могут иметь и дополнительные лабораторные исследования. Отклонения в лейкоцитарной формуле могут указывать на начало инфекционного заболевания, вызванного возбудителем с парентеральным путем передачи. Ниже приведено описание наблюдения, иллюстрирующего данное предположение.

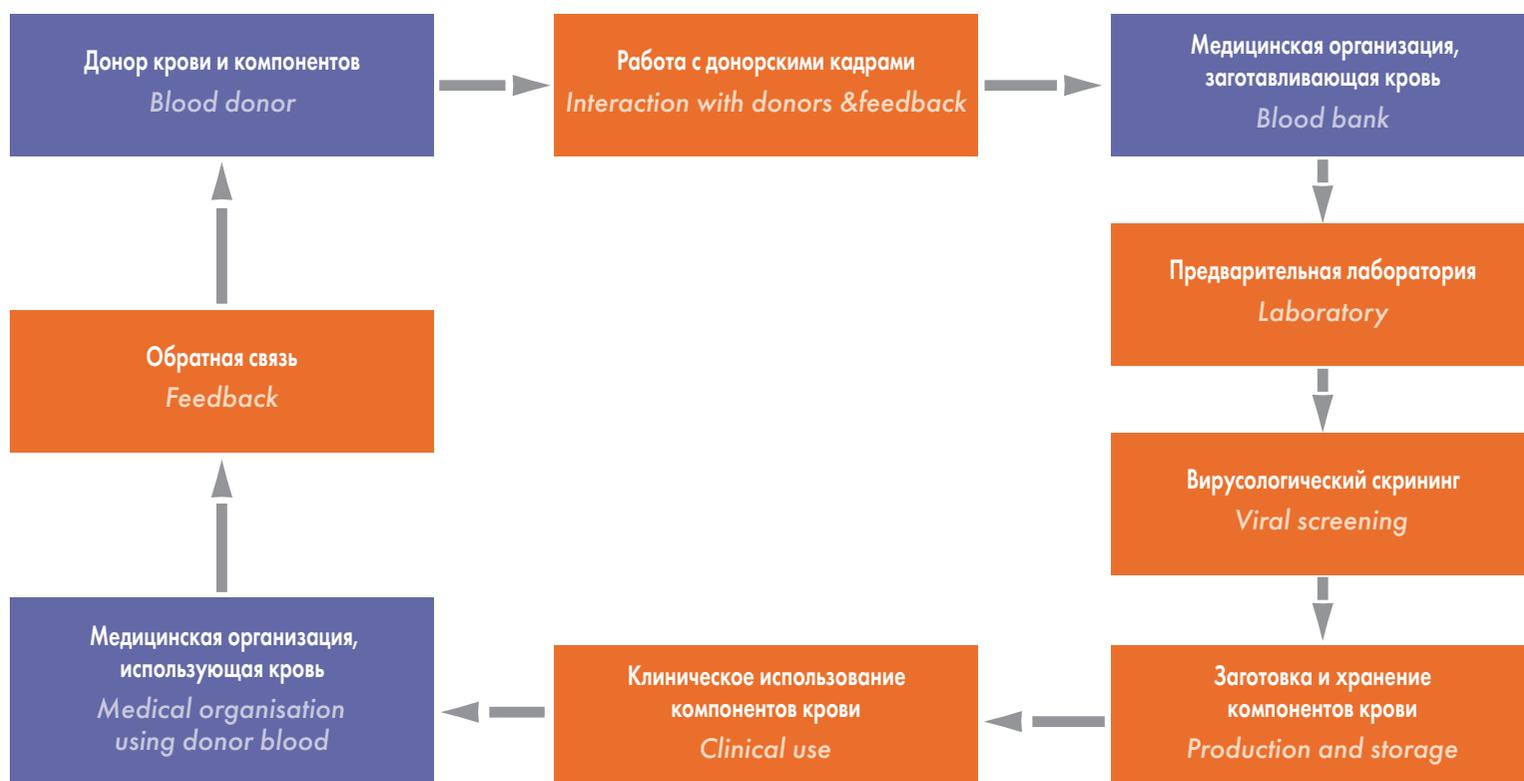


Рисунок 3. Элементы системы повышения вирусной безопасности трансфузий крови и ее компонентов
Figure 3. A system for ensuring the viral safety of blood transfusions

Наблюдение № 1

Повторный донор Д., мужчина в возрасте 33 лет, у которого было выполнено 8 донаций в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (3 донации цельной крови, 2 — аппаратных плазмафереза, 3 — аппаратных тромбоцитафереза), после 8-й донации (16.02.2016) был отстранен от донорства на основании выявления ДНК ВГВ. Предпоследняя донация состоялась 15.01.2016, при этом в общем анализе крови отмечались отклонения от нормы содержания моноцитов и лимфоцитов. Результаты общего анализа крови донора Д. при последних двух донациях перед отстранением от донорства представлены в таблице 1.

В общем анализе крови в день предпоследней донации (15.01.2016) у донора при нормальных значениях основных показателей крови наблюдался относительный моноцитоз и относительный лимфоцитоз. В результатах общего анализа крови, исследованном при последней донации (16.02.2016), эти показатели уже находились в пределах нормальных значений. Поскольку отклонения в лейкоцитарной формуле были незначительными, донор 15.01.2016 был допущен к донации. При тестировании мини-пула из 6 образцов, в который попал образец донора Д., методом ПЦР была выявлена ДНК ВГВ. Распулирование и исследование образца в индивидуальной постановке показало низкую концентрацию вирусной ДНК (менее 150 МЕ/мл). Таким образом, у донора был заподозрен первичный вирусный гепатит В. Донор был отстранен от донорства, компоненты кро-

ви, заготовленные от донации 16.02.2016 (тромбоцитный концентрат) и 15.01.2016 (плазма свежезамороженная из цельной крови), были утилизированы. Проверка всех реципиентов, получивших когда-либо трансфузии от этого донора, показала, что никто не был инфицирован трансфузионным путем. Наблюдение за донором выявило дальнейшую сероконверсию, увеличение вирусемии и клиническую картину острого вирусного гепатита В, потребовавшего госпитализации донора в инфекционное отделение больницы.

Данный случай демонстрирует, что незначительное отклонение от нормы в лейкоцитарной формуле уже может быть первым симптомом инфицирования донора гемотрансмиссивными инфекциями. При этом сывороточная активность АЛТ была в пределах нормальных значений как при предпоследней, так и при последней донациях. Показательно, что ни добровольность, ни условная безвозмездность донаций, ни тот факт, что донор является повторным, не гарантируют ответственного отношения к донорству. В описанном случае донор сдавал кровь в раннем периоде после инфицирования, не распознав или проигнорировав факторы риска. В поведении донора прослеживается вероятная материальная заинтересованность, поскольку позднее, после выздоровления, донор обратился в следственные органы с обвинением персонала отдела заготовки крови в инфицировании его в момент донации и требованием денежной компенсации.

Таблица 1. Результаты общего анализа крови донора Д. при последних двух донациях перед отстранением от донорства
Table 1. Donor D.'s blood count results for the last two donations before withdrawal

| Параметры <i>Parameters</i> | Результаты <i>Results</i> | | Референсные значения <i>References</i> |
|--|--|---|---|
| | 15.01.2016 (предпоследняя донация) <i>(penultimate donation)</i> | 16.02.2016 (последняя донация) <i>(last donation)</i> | |
| Гемоглобин, г/л <i>Hemoglobin, g/l</i> | 156 | 147 | 130–160 |
| АЛТ, ед <i>ALT, U</i> | 19 | 13 | 0–41 |
| Лейкоциты, $\times 10^9$ /л <i>WBC, $\times 10^9$ per l</i> | 4,1 | 8,3 | 4–9 |
| Тромбоциты, $\times 10^9$ /л <i>PLT, $\times 10^9$ per l</i> | 252 | 254 | 180–320 |
| СОЕ, мм/ч <i>ESR, mm per hour</i> | 4 | 4 | 2–10 |
| Гематокрит <i>Hematocrit</i> | 45 | 44,1 | 40–49 |
| Эритроциты, $\times 10^{12}$ /л <i>RBC, $\times 10^{12}$ per l</i> | 5,16 | 5,15 | 4–5,5 |
| Лейкоцитарная формула <i>WBC count</i> | | | |
| Моноциты, % <i>Monocytes, %</i> | 13,8 | 8,7 | 2–10 |
| Лимфоциты, % <i>Lymphocytes, %</i> | 51,6 | 35,7 | 18–38 |

3. Повышение инфекционной безопасности компонентов донорской крови на этапе вирусологического скрининга

Одним из наиболее объективных методов обеспечения безопасности трансфузий является вирусологический скрининг образцов донорской крови. Как было указано ранее, для ВГВ у доноров при декретированном исследовании не определяются какие-либо антитела. Для устранения этого несоответствия был разработан и в 2014 г. внедрен в практику ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России «Порядок обследования донорской крови и выбраковки компонентов по результатам лабораторного исследования на инфекционные маркеры», включающий в себя скрининг донорской крови на анти-НВс при каждой донации и отстранение от донорства на основании выявления этого маркера. Введение данного протокола позволило исключить передачу ВГВ больным с вторичным иммунодефицитом, несмотря на высокую трансфузионную нагрузку [14]. С марта 2014 г. по январь 2019 г. в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России было выполнено 54 007 трансфузий 3526 больным: 4609 трансфузий плазмы, 20 785 — эритроцитной взвеси, 27 257 — концентрата тромбоцитов и 1356 — криопреципитата. Для оценки частоты выявления маркеров инфекций в рамках действующего протокола было проанализировано 26 113 донаций: 8134 (31,1%) от первичных и 17 979 (68,9%) от повторных доноров соответственно. В 6 образцах крови повторных доноров, ранее уже обследованных на анти-НВс, было зафиксировано появление этого маркера. При этом в 3 случаях это был единственный маркер ВГВ. В 2 образцах были выявлены и другие маркеры ВГВ, в том числе вирусная ДНК, и в 1 образце также были обнаружены маркеры ВИЧ-инфекции. Одновременное обнаружение у некоторых доноров анти-НВс и других маркеров инфекций указывает на возможную роль данного маркера в повышении чувствительности всего комплекса тестов на возможное инфицирование компонентов крови. Одновременное выявление нескольких маркеров инфекций является надежным свидетельством рискованного поведения донора в целом. Анализ индикаторов риска ко- или суперинфицирования показал, что положительный анти-НВс тест повышает вероятность обнаружения и других маркеров в 3–100 раз, данные представлены на рисунке 4.

3.1. Проведение ретроспективного расследования при отводе повторного донора крови и ее компонентов по маркерам инфекции

Повторное многократное обследование донора не исключает риск передачи инфекции с компонентами крови. Минимальный допустимый период между донациями крови и ее компонентов составляет от двух недель до месяца, а «негативное окно»

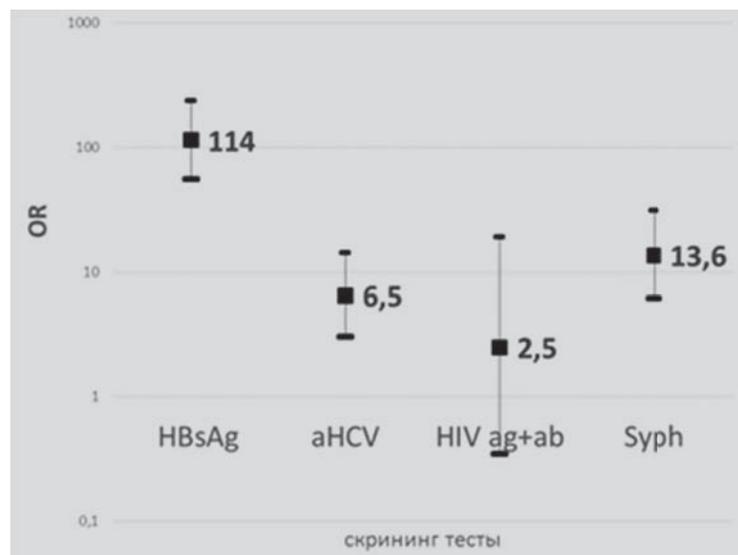


Рисунок 4. Анализ сопряженности выявления различных маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров крови и ее компонентов

Figure 4. Contingency analysis of blood-borne infection markers detection in blood donors

для некоторых гемотрансмиссивных инфекций — от нескольких недель до месяца при условии выполнения молекулярных исследований. Если маркеры инфекций выявляются у повторных доноров, часто сдающих кровь и ее компоненты, возникает риск передачи инфекции реципиенту, если донация осуществлялась в период «негативного окна». Отделом вирусологической диагностики ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России был разработан и с 01.12.2018 внедрен в рутинную практику протокол ретроспективного расследования при отводе повторного донора крови и ее компонентов по маркерам инфекции. Согласно этому протоколу, после отстранения проводится поиск ранее заготовленных компонентов крови и их утилизация. После этого осуществляется поиск реципиентов, ранее получивших трансфузии компонентов крови от отстраненного донора, ревизия их вирусологического статуса и мониторинг в течение года после «рискованной» трансфузии. Всего проведено 18 расследований: в 7 случаях у повторных доноров были выявлены анти-ВГС, в 6 — маркеры ВИЧ, в 4 — РНК ВГС и в 1 случае — ДНК ВГВ. В ходе выполнения расследований была утилизирована 71 единица продукции, находившаяся на хранении. В период «негативного окна» всего было выполнено 118 «рискованных» трансфузий 96 реципиентам. При выполнении расследований выяснилось, что 17 реципиентов умерли во время периода возможного «негативного окна» после «рискованной» трансфузии от прогрессии основного заболевания либо от септического шока и инфекционных осложнений, 46 успешно проведена ревизия вирусологического статуса. Оставшимся 32 реципиентам провести ревизию не удалось (больные были выпитаны из стационара еще до окончания возможного

периода «негативного окна»), что является основным затруднением в проведении таких расследований. По этой причине расследование не удалось завершить в 9 из 18 случаев. В остальных 9 случаях удалось исключить факт передачи инфекции при переливании ранее заготовленных компонентов от доноров, отведенных впоследствии по маркерам инфекции.

Пример проведения ретроспективного вирусологического расследования

Донор Ф., статус — резервный, повторный, возраст — 27 лет. 17.11.2016 был отстранен от донорства в связи с выявлением маркеров ВИЧ-инфекции (результат подтвержден в иммуноблоте в Федеральном научно-методическом центре по профилактике и борьбе со СПИДом). Поиск компонентов, находившихся на длительном хранении, позволил утилизировать 2 единицы свежемороженой плазмы. Всего было проведено 2 «рискованные» трансфузии компонентов крови от этого донора 2 реципиентам и 2 трансфузии вне зоны возможного «негативного окна» (в более ранний период) 1 реципиенту. Ревизия вирусологического статуса была проведена у всех реципиентов и показала отсутствие маркеров ВИЧ. Таким образом, расследование было успешно завершено, передача инфекции трансфузионным путем исключена. Схема данного расследования отображено на рисунке 5.

4. Повышение инфекционной безопасности компонентов донорской крови на стадии заготовки и хранения

Компоненты донорской крови, заготавливаемые для больных, страдающих опухолевыми заболеваниями системы крови, подвергаются лейкоредукции, что значительно повышает как инфекционную, так и иммунологическую безопасность трансфузий [15, 16]. Дополнительными методами повышения безопасности являются редукция патогенов и облучение компонентов донорской крови [17]. Наибольшая концентрация вирусных частиц содержится в плазме крови донора, поэтому получение компонентов крови с частичным замещением плазмы добавочными или взвешивающими растворами позволяет повысить не только безопасность этих компонентов, но и увеличить сроки их хранения [16, 18–21].

Другим действенным способом повышения вирусной безопасности компонентов донорской крови является карантинизация плазмы — хранение при температуре минус 20 °С не менее 120 суток и недопущение ее для клинического использования до получения результатов повторного скрининга донора на маркеры гемотрансмиссивных инфекций. Методы криоконсервирования и декриоконсервирования разработаны и апробированы как для эритроцитсодержащих компонентов [19], так и для концентратов донорских

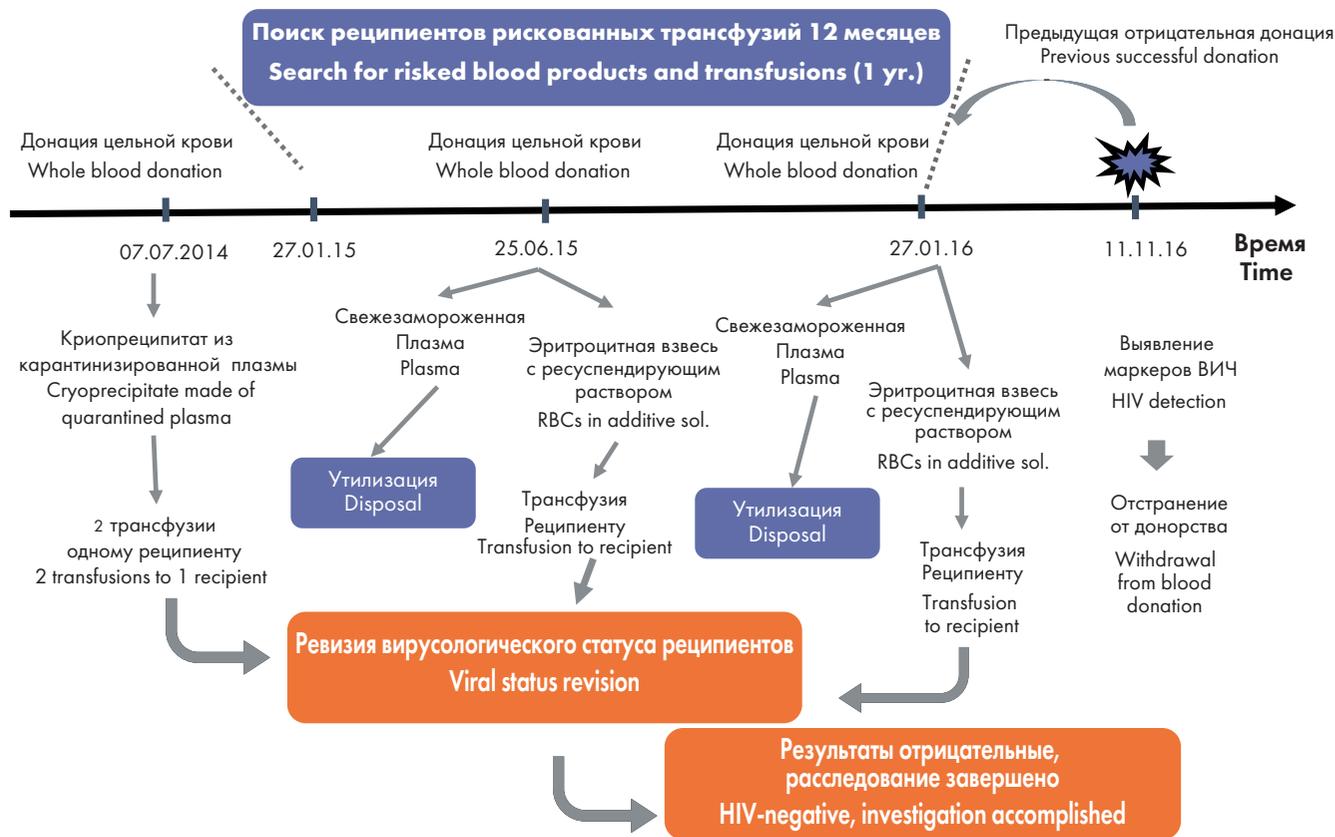


Рисунок 5. Проведение ретроспективного расследования после отстранения повторного донора Ф. по маркерам ВИЧ
Figure 5. Retrospective investigation of donor F. after suspension due to HIV detection

тромбоцитов [18, 20, 21]. Однако карантинизация этих компонентов донорской крови практически не осуществляется из-за неизбежного уменьшения количества функционально активных тромбоцитов и лизиса эритроцитов при хранении и декриоконсервировании и материальных и трудовых затрат.

5. Повышение инфекционной безопасности компонентов донорской крови при клиническом использовании

Действенной мерой повышения безопасности трансфузий является их назначение только в случае наличия объективных показаний у потенциального реципиента. Появление в крови реципиента маркеров парентеральных вирусных гепатитов в первую очередь связывают именно с фактом переливания. Однако источником инфекции не всегда является донор. Важным условием корректного осуществления мониторинга вирусных инфекций является необходимый и достаточный первичный вирусологический скрининг, проведенный до трансфузий. В случае латентной формы инфекции у больного применение стандартного вирусологического исследования (ВИЧ, HBsAg и анти-ВГС) при госпитализации не позволяет выявить факт инфицирования больного. После заражения ВГС в большинстве случаев происходит хронизация вирусного процесса, однако описаны случаи спонтанного клиренса вируса после первичной острой ВГС-инфекции [23]. J. M. Micallef и соавт. привели данные о персистенции ВГС преимущественно в гепатоцитах и дендритных клетках после первичной инфекции даже в случае исчезновения вирионов из крови [22]. Единого мнения о возможности полной эрадикации ВГС после инфицирования нет. Установление иммунологического контроля над активной инфекцией влечет за собой переход вируса в латентное состояние. В пользу этого факта говорит наличие CD4 и CD8 лимфоцитов, т. е. клеток «длительной памяти», специфичных против антигенов ВГВ, которые обнаруживаются и через несколько лет после первичной инфекции. В латентной фазе инфекции вирус синтезирует незначительное количество антигенов, которые не обнаруживаются с помощью существующих лабораторных методов, но их достаточно для поддержания ВГВ-специфического Т-клеточного ответа [24]. В печени инфицированных лиц могут быть обнаружены, помимо молекул ковалентно замкнутой кольцевой ДНК ВГВ, все вирусные транскрипты [24]. При помощи количественной ПЦР в режиме реального времени детектируются небольшие, но все же значимые количества мРНК вируса. Таким образом, клиническое выздоровление при ВГВ-инфекции отражает не полную эрадикацию вируса, а лишь способность иммунной системы контролировать репродукцию вируса в печени после клинического выздоровления [24].

Характерной особенностью латентных форм ВГВ-инфекции и ВГС-инфекции является возможность

активации на фоне вторичного иммунодефицита и развития острой инфекции [12, 13]. Это может произойти при применении цитостатических препаратов, глюкокортикостероидных гормонов, моноклональных антител и иммуносупрессоров прямого действия. Таким образом, определение вирусологического статуса больного при поступлении в стационар и регулярный мониторинг являются крайне актуальными. Согласно разработанному протоколу [25], при госпитализации проводится обследование всех больных на наличие анти-НВс, анти-НВс, ДНК ВГВ в дополнение к регламентированным. В случае обнаружения у больного HBsAg проводится дополнительное исследование на наличие е-антигена ВГВ (HBeAg). Если у больного при госпитализации в крови обнаружены анти-НВс, проводится дополнительное исследование на наличие анти-НВс IgM. При получении отрицательного результата исследования на наличие анти-НВс и анти-НВс в крови больных показан мониторинг этих маркеров не реже 1 раза в 3–6 месяцев в зависимости от динамики клинико-лабораторных показателей. Выявление в крови анти-НВс может быть как результатом вакцинации, так и свидетельством контакта организма с вирусом, поэтому больным, в крови которых выявлены только эти антитела, показано исследование на наличие антител к е-антигену ВГВ для подтверждения инфицированности ВГВ. Если основное заболевание и/или его лечение предполагает трансфузии компонентов донорской крови, трансплантацию органов и тканей или пребывание в стационаре более одного месяца, то показано ежемесячное исследование наличия HBsAg, анти-ВГС, ДНК ВГВ и РНК ВГС. Остальные контингенты больных, вне зависимости от результатов тестирования при поступлении, обследуются на инфекционные маркеры ВГВ и ВГС по клиническим и эпидемиологическим показаниям.

Данный протокол был введен в рутинную практику ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с 10.01.2017 [25]. Его применение позволило получить более полную информацию об инфицированности больных, поступивших в стационар. Результаты вирусологического первичного исследования (до начала специфической и гемокомпонентной терапии) крови больных, поступивших на лечение в 2018 г. и начале 2019 г., представлены в таблице 2.

Согласно таблице 2, у 83 из 404 больных, обследованных до начала лечения гематологического заболевания и гемокомпонентной терапии на дополнительные маркеры ВГВ (анти-НВс и анти-НВс), были выявлены анти-НВс, что свидетельствовало об инфицированности ВГВ, но при этом только у 5 из них был выявлен HBsAg, у 2 из которых также была выявлена ДНК ВГВ в низкой концентрации (менее 150 МЕ/мл). Таким образом, у 78 из 404 (19,31%) обследованных больных анти-НВс оказался единственным маркером ВГВ. Появление у реципиентов трансфузий компонентов донорской крови или реципиентов органов

Таблица 2. Частота выявления маркеров ВГВ и ВГС при первичном обследовании больных за период 09.01.2018–11.03.2019
Table 2. Detection rate of HBV and HCV markers before treatment in patients administered over the 09.01.2018–11.03.2019 period

| Вирус Virus | Исследуемые маркеры Investigated markers | Обследованные больные до начала лечения гематологического заболевания и гемокомпонентной терапии Patients screened before treating the hematologic disorder and blood component treatment | | | |
|----------------|---|--|--|---|-------|
| | | общее количество обследованных больных total number of screened patients | | больные с положительными результатами patients with positive results | |
| | | n | доля обследованных больных на маркер, % % of screened patients for marker | n | % |
| ВГВ HBV | HBsAg | 465 | 100,00 | 5 | 1,08 |
| | ДНК ВГВ HBV DNA | 70 | 15,05 | 2 | 2,86 |
| | анти-НВс α-HBc | 404 | 86,88 | 83 | 20,54 |
| | анти-НВs α-HBs | 404 | 86,88 | 117 | 28,96 |
| ВГС HCV | анти-ВГС α-HCV | 465 | 100,00 | 44 | 9,46 |
| | РНК ВГС HCV RNA | 71 | 15,27 | 6 | 8,45 |

и тканей признаков активной ВГВ-инфекции расценивается как первичное инфицирование в процессе лечения, в то время как данный факт мог быть результатом реактивации латентного или малоактивного ВГВ.

Наблюдение № 2

В марте 2016 г. в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России был госпитализирован больной М., страдавший множественной миеломой. Диагноз у него был установлен на основании данных клинико-лабораторного обследования: инфильтрация плазматическими клетками костного мозга (10%), моноклональная секреция белка G-каппа и протеинурия ВJ-каппа, почечная недостаточность (креатинин 200 мкмоль/л), гиперкальциемия 3,9 мкмоль/л. При стандартном вирусологическом скрининге были получены отрицательные результаты. С 16.03.2016 ему были проведены множественные курсы химиотерапии. В марте 2017 г. проведена терапия высокими дозами мелфалана, трансплантация аутологичных стволовых кровяных клеток.

После внедрения протокола «Протокол мониторинга вирусологического статуса больных заболеваниями системы крови с целью реализации повышения безопасности трансфузий» [25] в практику ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России в марте 2017 г. у больного при отрицательных результатах стандартного вирусологического скрининга и отсутствии клинических признаков поражения печени в течение всего химиотерапевтического лечения впервые проведено исследование на расширенный спектр маркеров ВГВ: анти-НВс (результат положительный), анти-НВs (результат 179 Е/л) и анти-НВе (результат отрицательный), а также на ДНК ВГВ (результат положительный, концентрация 260 МЕ/мл). Полученный спектр маркеров соответствует неактивной фазе хронического вирусного гепатита В.

В июле 2018 г. после очередного курса химиотерапии у больного были выявлены признаки прогрессии основного заболевания, в связи с чем ему были проведено симптоматическое лечение, приведшее к улучшению самочувствия. Ухудшение состояния наступило 20.10.2018, больной был госпитализирован в экстренном порядке в связи с длительным носовым кровотечением, анемическим синдромом, выраженной тромбоцитопенией. Проводилась заместительная гемотрансфузионная терапия, носовое кровотечение было остановлено. При вирусологическом исследовании 22.10.2018 выявлены HBsAg и ДНК ВГВ в концентрации более 10⁸ МЕ/мл, что позволило констатировать реактивацию хронического гепатита В на фоне прогрессии резистентной к терапии множественной миеломы. В результате специфического поражения печени и активного вирусного гепатита В развилась печеночная дисфункция с выраженной гипоальбуминемией до 16 г/л, гипопротромбинемией, повышением печеночных трансаминаз до 15–20 норм и лактатдегидрогеназы до 20 норм. Состояние больного прогрессивно ухудшалось, и 07.11.2017 он умер от полиорганной недостаточности в результате прогрессии основного заболевания и вирусного гепатита В.

Таким образом, у больного наблюдалась активация ВГВ, осложнившая течение множественной миеломы. Без дополнительных исследований на анти-НВс и анти-НВs данная картина могла быть расценена как первичное инфицирование.

5.1. Проведение расследования случаев возможного инфицирования реципиента компонентов донорской крови вирусом гепатита В или С

Внедрение протокола вирусологического обследования больных при госпитализации позволяет выявить больных, инфицированных ВГВ и/или ВГС, что дает

возможность далее проводить адекватный мониторинг, отслеживать реактивацию вирусного процесса и планировать специфическую противовирусную терапию. Следствием внедренного протокола является мониторинг первичного появления маркеров ВГВ или ВГС у ранее неинфицированных больных. В настоящее время нормативные документы, описывающие алгоритм действий при выявлении инфекционных маркеров, разработан и применяется для ВИЧ-инфекции [26]. В рамках трансфузиологической службы ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России был предложен, апробирован и с 01.11.2013 введен в практику алгоритм проведения расследования случаев первичного выявления маркеров ВГВ или ВГС у ранее неинфицированных реципиентов компонентов донорской крови, состоящий из трех этапов [27]. Согласно предложенному протоколу [27], после первичного выявления маркеров вирусных инфекций проводится исследование архивных образцов крови и определение/коррекция даты первичного выявления, исходя из которой рассчитывается период вероятного инфицирования больного, после чего проводятся сбор трансфузиологического анамнеза и поиск возможных источников инфекции среди доноров. Всего с момента внедрения протокола с 2013 по 2018 г. было проведено 10 расследований. В 7 случаях был исключен трансфузионный путь передачи инфекции, 2 случая завершить не удалось, поскольку некоторые включенные в расследование первичные доноры отказались от проведения контрольного обследования, и в 1 случае бо-

лее детальное исследование архивных образцов крови и костного мозга больного позволило констатировать у него не первичное инфицирование ВГС, а реактивацию хронической инфекции на фоне прогрессии основного заболевания и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Таким образом, вероятность передачи инфекций с донорской кровью и ее компонентами сохраняется, поскольку не существует способа, гарантирующего полную эрадикацию инфекционных агентов. В то же время существует комплекс мер повышения вирусной безопасности трансфузий. Мероприятия, проводимые на разных этапах, существенно отличаются как по характеру, так и по ресурсо- и трудозатратам. Однако все существующие меры являются не взаимоисключающими, а взаимодополняющими, создающими общую систему повышения вирусной безопасности трансфузий крови и ее компонентов. Введение новых диагностических маркеров, в частности анти-НВс, способствует выявлению скрыто инфицированных лиц среди доноров крови и ее компонентов, что снижает риск трансфузионной передачи инфекций, в том числе реципиентами множественных трансфузий, которые находятся в состоянии иммунодефицита. Непременным условием эффективного мониторинга безопасности трансфузий является полноценное выявление первично инфицированных лиц среди реципиентов компонентов крови и выполнение комплекса мер по расследованию возможных причин появления инфекции.

Литература

1. Global health sector response to HIV, 2000–2015: focus on innovations in Africa: progress report. Geneva: World Health Organization; 2016.
2. Stover J., Andreev K., Slaymaker E. et al. Updates to the Spectrum model to estimate key HIV indicators for adults and children. *AIDS*. 2014; 28: 427–34. DOI: 10.1097/QAD.0000000000000483.
3. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T. et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet*. 2015; 386: 1546–55. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)61412-X.
4. Blach S., Zeuzem S., Manns M. et al. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017; 2(3): 161–76. DOI: 10.1016/S2468-1253(16)30181-9.
5. Ющук Н.Д., Климова Е.А., Знойко О.О. и др. Протокол диагностики и лечения больных вирусными гепатитами В и С. *Рос ж гастроэнтерол, гепатол, колопроктол*. 2010; 20(6): 4–60.
6. Hollinger F.B. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion*. 2008; 48(5): 1001–26. DOI: doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01701.x.
7. European Association For The Study Of The Liver (EASL) 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017; 67(2): 370–98. DOI: 10.1016/j.jhep.2017.03.021.
8. Castillo I., Pardo M., Bartolomé J. et al. Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *J Infect Dis*. 2004; 189(1): 7–14. DOI: 10.1086/380202.

References

1. Global health sector response to HIV, 2000–2015: focus on innovations in Africa: progress report. Geneva: World Health Organization; 2016.
2. Stover J., Andreev K., Slaymaker E. et al. Updates to the Spectrum model to estimate key HIV indicators for adults and children. *AIDS*. 2014; 28: 427–34. DOI: 10.1097/QAD.0000000000000483.
3. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T. et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet*. 2015; 386:1546–55. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)61412-X.
4. Blach S., Zeuzem S., Manns M. et al. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017; 2(3): 161–76. DOI: 10.1016/S2468-1253(16)30181-9.
5. Yushchuk N.D., Klimova E.A., Znojko O.O. et al. Protocol for the diagnosis and treatment of patients with viral hepatitis B and C. *Rossijskij zhurnal gastroehnterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2010; 20(6): 4–60 (In Russian).
6. Hollinger F.B. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion*. 2008; 48(5): 1001–26. DOI: doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01701.x.
7. European Association For The Study Of The Liver (EASL) 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017; 67(2): 370–98. DOI: 10.1016/j.jhep.2017.03.021.
8. Castillo I., Pardo M., Bartolomé J. et al. Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *J Infect Dis*. 2004; 189(1): 7–14. DOI: 10.1086/380202.

9. Приказ МЗ РФ N364 от 14 сентября 2001 г. «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов» в ред. Приказов Минздравсоцразвития РФ от 16.04.2008 № 175н и от 06.06.2008 № 261н.
10. Tu T., Budzinska M., Shackel N., Urban S. HBV DNA integration: molecular mechanisms and clinical implications. *Viruses*. 2017; 9(4): 75. DOI: 10.3390/v9040075.
11. Hanno A., Mohiedeen K., Alshayeb A., Deghedy A. HCV RNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) as a predictor of the response to antiviral therapy in chronic hepatitis C. *Alexandria J Med*. 2014; 50: 317–22. DOI: 10.1016/j.ajme.2013.05.004.
12. Chen K. L., Chen J., Rao H. L. et al. Hepatitis B virus reactivation and hepatitis in diffuse large B-cell lymphoma patients with resolved hepatitis B receiving rituximab-containing chemotherapy: risk factors and survival. *Chin J Cancer*. 2015; 34(3): 18. DOI: 10.1186/s40880-015-0015-9.
13. Paul S., Saxena A., Terrin N. et al. Hepatitis B Virus Reactivation and Prophylaxis During Solid Tumor Chemotherapy: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2016; 164: 30–40. DOI:10.7326/M15-1121.
14. Туполева Т.А., Романова Т.Ю., Абакаров Р.Р. и др. Лабораторные инструменты обеспечения вирусной безопасности компонентов донорской крови. Сборник трудов сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика». 2017. С. 271–272.
15. Зарубин М.В., Губанова М.Н., Гапонова Т.В. и др. Обеспечение эффективности и безопасности переливания тромбоцитов. *Вест. Нац. мед-хир. центра им. Н.И. Пирогова*. 2016; 11(3): 118–25.
16. Ганапиев А.А., Буд'ко О.А., Кононенко С.Н. Применение современных технологий, обеспечивающих качество и безопасность гемоконпонентной терапии в многопрофильном стационаре МЧС России. *Мед-биол. соц-психол. пробл. безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2016; 4: 28–34.
17. Азимова М.Х., Гапонова Т.В., Галстян Г.М. и др. Изменения маркеров активации донорских тромбоцитов при хранении после проведения инактивации патогенов с помощью технологии амотосален и ультрафиолетовое облучение спектра А. *Гематол. трансфузиол.* 2017; 62(4): 197–203.
18. Marini I., Aurich K., Jouni R. et al. Cold storage of platelets in additive solution: the impact of residual plasma in apheresis platelet concentrates. *Haematologica*. 2019; 104(1): 207–14. DOI: 10.3324/haematol.2018.195057.
19. Кирьянова Г.Ю., Волкова С.Д., Касьянов А.Д. и др. Криоконсервирование эритроцитов при температурах –40 и –80 °С. *Вестн. международной академии холода*. 2017; 1: 72–8.
20. Шерстнев Ф.С., Утемов С.В., Костяев А.А. и др. Эффективность криоконсервирования при –80 град. С тромбоцитных концентратов для клинического применения. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2018; 3: 53–64.
21. Slichter S.J., Dumont L.J., Cancelas J.A. et al. Safety and efficacy of cryopreserved platelets in bleeding patients with thrombocytopenia. *Transfusion*. 2018; 58(9): 2129–38. DOI: 10.1111/trf.14780.
22. Micallef J.M., Kaldor J.M., Dore G.J. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *J Viral Hepat*. 2006; 13(1): 34–41. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2005.00651.x.
23. Pham T.N., MacParland S.A., Mulrooney P.M. et al. Hepatitis C virus persistence after spontaneous or treatment-induced resolution of hepatitis C. *J Virol*. 2004; 78(11): 5867–74. DOI: 10.1128/JVI.78.11.5867-5874.2004.
24. Туполева Т.А. Латентная форма инфекции, вызванная вирусом гепатита В. *Гематология и трансфузиология*. 2018; 62(2): 166–73.
9. Order № 364 “On the approval of the order of medical examination of the blood donor” of the Ministry of Health of the Russia (in Russian).
10. Tu T., Budzinska M., Shackel N., Urban S. HBV DNA integration: molecular mechanisms and clinical implications. *Viruses*. 2017; 9(4): 75. DOI: 10.3390/v9040075.
11. Hanno A., Mohiedeen K., Alshayeb A., Deghedy A. HCV RNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) as a predictor of the response to antiviral therapy in chronic hepatitis C. *Alexandria J Med*. 2014; 50: 317–22. DOI: 10.1016/j.ajme.2013.05.004.
12. Chen K. L., Chen J., Rao H. L. et al. Hepatitis B virus reactivation and hepatitis in diffuse large B-cell lymphoma patients with resolved hepatitis B receiving rituximab-containing chemotherapy: risk factors and survival. *Chin J Cancer*. 2015; 34(3): 18. DOI: 10.1186/s40880-015-0015-9.
13. Paul S., Saxena A., Terrin N. et al. Hepatitis B Virus Reactivation and Prophylaxis During Solid Tumor Chemotherapy: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2016; 164: 30–40. DOI:10.7326/M15-1121.
14. Tupoleva T.A., Romanova T.Yu., Abakarov R.R. et al. Blood transfusion safety laboratory tools of donor blood components. In “Molecular diagnostics”. 2017. P. 271–272 (In Russian).
15. Zarubin M.V., Gubanov M.N., Gaponov T.V. et al. Efficiency and safety of platelet transfusion. *Vestnik Nacional'nogo mediko-khirurgicheskogo centra im. NI Pirogova*. 2016; 11(3): 118–25 (In Russian).
16. Ganapiev A.A., Bud'ko O.A., Kononenko S.N. Application of modern technologies securing the quality and safety of blood transfusion therapy in a multidisciplinary hospital of the Ministry of Emergencies of Russia. *Mediko-biologicheskie i social'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychajnykh situatsiyakh* (In Russian).
17. Azimova M. Kh., Gaponova T.V., Galstyan G.M. et al. Changes in donor platelet activation markers during storage after pathogen reduction via amotosalen technology and spectrum A ultraviolet irradiation. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2017; 62(4): 197–203 (In Russian).
18. Marini I., Aurich K., Jouni R. et al. Cold storage of platelets in additive solution: the impact of residual plasma in apheresis platelet concentrates. *Haematologica*. 2019; 104(1): 207–14. DOI: 10.3324/haematol.2018.195057.
19. Kir'yanova G.Yu., Volkova S.D., Kas'yanov A.D. et al. Cryopreservation of red blood cells at –40 and –80 °C. *Vestnik mezhdunarodnoj akademii kholoda*. 2017; 1: 72–8 (In Russian).
20. Sherstnev, F.S., Utemov, S.V., Kostyaev, A.A. et al. The effectiveness of cryopreservation of platelet concentrates at –80 °C for clinical use. *Medicina ehkstreml'nykh situatsiy*. 2018; 3: 53–64 (In Russian).
21. Slichter S.J., Dumont L.J., Cancelas J.A. et al. Safety and efficacy of cryopreserved platelets in bleeding patients with thrombocytopenia. *Transfusion*. 2018; 58(9): 2129–38. DOI: 10.1111/trf.14780.
22. Micallef J.M., Kaldor J.M., Dore G.J. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *J Viral Hepat*. 2006; 13(1): 34–41. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2005.00651.x.
23. Pham T.N., MacParland S.A., Mulrooney P.M. et al. Hepatitis C virus persistence after spontaneous or treatment-induced resolution of hepatitis C. *J Virol*. 2004; 78(11): 5867–74. DOI: 10.1128/JVI.78.11.5867-5874.2004.
24. Tupoleva T.A. Occult Hepatitis B infection. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2018; 62(2): 166–73 (In Russian).

25. Савченко В.Г. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. В 2 томах. М.: Практика, 2018.
26. СП 3.1.5.2826-10 от 11.01.2011 «Профилактика ВИЧ-инфекции» (в ред. Изменений № 1, утв. Постановлением главного государственного санитарного врача РФ от 21.07.2016 № 95).
27. Романова Т.Ю., Туполева Т.А., Тихомиров Д.С. и др. Проведение эпидемиологического расследования случаев возможного инфицирования реципиента трансфузий компонентов донорской крови вирусом гепатита В и/или С. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017; 22(5): 228–38.

Информация об авторах

Тихомиров Дмитрий Сергеевич*, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научной лаборатории вирусной безопасности трансфузий крови и ее компонентов ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: tihomirovgnc@bk.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2553-6579>

Туполева Татьяна Алексеевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом вирусологической диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: ttupoleva@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4668-9379>

Гуляева Анна Андреевна, заведующий отделением контроля крови на вирусные гепатиты, СПИД, сифилис ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: a1573@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0888-6147>

Старкова Оксана Газимагомедовна, врач КЛД отделения контроля крови на вирусные гепатиты, СПИД, сифилис ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: oksanastar2006@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1480-6139>

Абакаров Руслан Рамазанович, биолог отделения контроля крови на вирусные гепатиты, СПИД, сифилис ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: arr05@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0650-2779>

Куликов Сергей Михайлович, кандидат технических наук, заведующий лабораторией биостатистики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: kulikov.s@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8264-6689>

25. Savchenko V.G. Algorithms of diagnostic and treatment protocols of blood diseases. Moscow: Praktika, 2018. 2272 p. (In Russian).
26. Standards and regulations № 3.1.5.2826-10 “HIV-infection prophylaxis” (In Russian).
27. Romanova T.Yu., Tupoleva T.A., Tikhomirov D.S. et al. Epidemiological investigation of possible transfusion transmission of HBV or HCV. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2017; 22(5): 228–38 (In Russian).

Information about the authors

Dmitry S. Tikhomirov*, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Viral Safety of Blood Transfusion, National Research Center for Hematology,
e-mail: tihomirovgnc@bk.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2553-6579>

Tatiana A. Tupoleva, Dr. Sci. (Med.), Head of Department of Virology, National Research Center for Hematology,
e-mail: ttupoleva@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4668-9379>

Anna A. Gulyaeva, Head of the Department of Blood Screening for Hepatitis, AIDS, Syphilis, National Research Center for Hematology,
e-mail: a1573@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0888-6147>

Oksana G. Starkova, Pathologist, Department of Blood Screening for Hepatitis, AIDS, Syphilis, National Research Center for Hematology,
e-mail: oksanastar2006@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1480-6139>

Ruslan R. Abakarov, Biologist, Department of Blood Screening for Hepatitis, AIDS, Syphilis, National Research Center for Hematology,
e-mail: arr05@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0650-2779>

Sergey M. Kulikov, Cand. Sci. (Tech.), Head of the Laboratory of Biostatistics, National Research Center for Hematology,
e-mail: kulikov.s@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8264-6689>

Гапонова Татьяна Владимировна, кандидат медицинских наук, заместитель генерального директора по трансфузиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: gaponova.tatij@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9684-5045>

Tatiana V. Gaponova, Cand. Sci. (Med.), Deputy Director, National Research Center for Hematology,
e-mail: gaponova.tatij@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9684-5045>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 03.12.2019

Принята к печати: 25.12.2019

*** Corresponding author**

Received 03 Dec 2019

Accepted 25 Dec 2019

РОЛЬ ИНТЕРЛЕЙКИНА-3 И ЕГО РЕЦЕПТОРА В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗОВ

Бальжанова Я. Б.*, Савченко В. Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Интерлейкин-3 (ИЛ-3) является важным цитокином, регулирующим процесс нормального кроветворения. Часто лейкоэмические клетки экспрессируют α -цепь рецептора ИЛ-3 (CD123).

Цель: обобщить современное представление о значении ИЛ-3 и его рецептора CD123 в патогенезе острых лейкозов.

Основные сведения. ИЛ-3 регулирует пролиферацию и дифференцировку нормальных кроветворных клеток-предшественниц на ранних этапах гемопоэза. Рецептор ИЛ-3 (CD123) экспрессируется на нормальных кроветворных клетках. Подтверждена высокая экспрессия CD123 на бластных клетках острого миелоидного лейкоза, В-острого лимфобластного лейкоза и в популяции лейкоз-иницирующих клеток с фенотипом CD34⁺CD38⁻. ИЛ-3 препятствует апоптозу опухолевых клеток и способствует их автономному росту. В настоящий момент разрабатывают и исследуют различные терапевтические подходы блокирования ИЛ-3 опосредованного сигнала.

Ключевые слова: острый лейкоз, интерлейкин-3, CD123, лечение

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Бальжанова Я.Б., Савченко В.Г. Роль интерлейкина-3 и его рецептора в патогенезе острых лейкозов. Гематология и трансфузиология. 2020; 65 (3): 335–350. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-335-350>

THE ROLE OF INTERLEUKIN-3 AND ITS RECEPTOR IN ACUTE LEUKEMIA PATHOGENESIS

Balzhanova Ya. B.^{*}, Savchenko V.G.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Interleukin-3 (IL-3) is the key cytokine involved in the regulation of normal haematopoiesis. Some leukemic cells demonstrate high expression of the α -subunit of the receptor for interleukin-3 (CD123).

Aim: to summarize the current understanding of IL-3 and its receptor CD123 in the pathogenesis of acute leukemia.

General findings: IL-3 regulates the proliferation and differentiation of normal hematopoietic progenitor cells in the early stages of hematopoiesis. The IL-3 receptor (CD123) is expressed on normal hematopoietic cells. High expression of CD123 was confirmed on blast cells of AML, B-ALL and on the leukemia-initiating CD34⁺CD38⁻ cells. IL-3 inhibits apoptosis and promotes the autonomous growth of blast cells. Currently, different approaches of blocking the IL-3 mediated signal are being investigated.

Keywords: acute leukemia, interleukin-3, CD123, treatment

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Balzhanova Ya. B., Savchenko V.G. The role of interleukin-3 and its receptor in acute leukemia pathogenesis. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2020; 65(3): 335–350 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-335-350>

Введение

Результаты клинических исследований показали, что 5-летняя общая выживаемость больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) составляет 33%, острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) — 65%, а острым промиелоцитарным лейкозом — 95% [1]. Эффективность лечения острых лейкозов (ОЛ) зависит от выполнения трех условий: целенаправленности цитостатического или эпигенетического воздействия на опухоль, прецизионной сопроводительной терапии и адекватной трансфузионной поддержки [1]. Выбор терапевтического подхода для всех форм ОЛ основывается на определении линейной направленности опухолевых клеток, обнаружении аномалий кариотипа и молекулярных маркеров. Хромосомные aberrации и молекулярные аномалии, определяющие неблагоприятный прогноз и неудовлетворительные результаты терапии, требуют дифференцированного подхода к лечению больных ОМЛ. Такие аномалии кариотипа, как *inv16* и *t(8;21)*, ассоциированы с благоприятным прогнозом и 60–65% 5-летней

общей выживаемости, а присутствие комплексного или моносомного кариотипа, аномалии хромосом 5, 7 и *inv3* ассоциируется с неблагоприятным течением ОМЛ, при котором 5-летняя общая выживаемость составляет 20–25% [2, 3]. В 30% случаев у больных ОМЛ с нормальным кариотипом обнаруживают мутацию *FLT3-ITD* (*fms*-related tyrosine kinase 3 — internal tandem duplication), при которой происходят внутренние tandemные повторы в гене тирозинкиназы *FLT3*. Высокое аллельное соотношение такой мутации ассоциировано с высокой частотой рецидивов ОМЛ и короткой средней продолжительностью жизни [4]. В клинических рекомендациях European Leukemia Net при стратификации ОМЛ по группам риска в перечень неблагоприятных факторов прогноза включены мутации в генах *TP53*, *RUNX1*, *ASXL1* (табл. 1) [4]. При ОЛЛ к неблагоприятным цитогенетическим аномалиям относят *t(9;22)*, *t(4;11)*, *t(1;19)* [5]. При обнаружении этих aberrаций следует рассматривать вопрос о трансплантации аллогенных

гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК) [1]. При сравнении иммунологических вариантов В-ОЛЛ характеризуется худшим течением болезни, чем Т-ОЛЛ [6]. Существуют мнения о неблагоприятном прогностическом значении мутаций генов *IKZF1* (Ikaros family zinc finger 1) [7] и *CDKN2A* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A) [5].

Иммунофенотипические маркеры опухолевых клеток не входят в критерии стратификации риска для больных ОЛ. Однако проточная цитофлуориметрия в части случаев позволяет предполагать нарушения в геноме лейкоэмических клеток. Кроме того, отдельные белки,

экспрессируемые опухолевыми клетками, могут быть маркерами для терапевтического воздействия.

Молекулярно-генетическое разнообразие ОЛ является одной из причин терапевтических неудач при использовании протоколов лечения, базирующихся только на линейной, миелоидной или лимфоидной, дифференцировке опухолевых клеток. Достижения в изучении биологических свойств лейкоэмических клеток могут быть основой для создания препаратов, направленных на механизмы в клетке, ответственные за устойчивость к лекарственному воздействию. В результате расширяются возможности лечения ОЛ.

Таблица. Стратификация больных ОМЛ по группам риска в зависимости от геномных нарушений [4]

Table. Risk stratification by genetics of AML patients depending on genomic disorders [4]

| Группа риска Risk category | Геномные нарушения Genetic abnormality |
|--------------------------------------|---|
| Благоприятная Favorable | Мутации <i>NPM1</i> без <i>FLT3-ITD</i> или с <i>FLT3-ITD</i> с низким аллельным соотношением (<0,5) <i>Mutated NPM1 without FLT3-ITD or with FLT3-ITD with low allelic ratio (<0,5)</i> Биаллельная мутация <i>CEBPA</i> <i>Biallelic mutated CEBPA</i> t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1;q22) или t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> <i>inv(16)(p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11</i> |
| Промежуточная Intermediate | Мутации <i>NPM1</i> с <i>FLT3-ITD</i> с высоким аллельным соотношением (>0,5) <i>Mutated NPM1 with FLT3-ITD with high allelic ratio (>0,5)</i> «Дикий» тип <i>NPM1</i> без <i>FLT3-ITD</i> или с <i>FLT3-ITD</i> с низким аллельным соотношением (<0,5) (при отсутствии неблагоприятных генетических аномалий) <i>Wild-type NPM1 without FLT3-ITD or with FLT3-ITD with low allelic ratio (<0,5) (without adverse-risk genetic lesions)</i> t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> (превалирует над другими редкими сопутствующими неблагоприятными генетическими аномалиями) <i>t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A (takes precedence over rare, concurrent adverse-risk gene mutations)</i> Цитогенетические аномалии, не классифицированные как благоприятные или неблагоприятные <i>Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse</i> |
| Неблагоприятная Adverse | t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> (реаранжировка) <i>t(v;11q23.3); KMT2A (rearranged)</i> t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> inv(3)(q21.3;q26.2) или t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM(EV11)</i> <i>inv(3)(q21.3;q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM(EV11)</i> -5 или del(5q); -7; -17/abn(17p) <i>-5 or del(5q); -7; -17/abn(17p)</i> Комплексный кариотип / моносомный кариотип <i>Complex karyotype, monosomal karyotype</i> «Дикий» тип <i>NPM1</i> с <i>FLT3-ITD</i> с высоким аллельным соотношением (>0,5) <i>Wild-type NPM1 with FLT3-ITD with high allelic ratio (>0,5)</i> Мутированный <i>RUNX1</i>* <i>Mutated RUNX1*</i> Мутированный <i>ASXL1</i>* <i>Mutated ASXL1*</i> Мутированный <i>TP53</i> <i>Mutated TP53</i> |

* Мутации не следует использовать как неблагоприятные при их сочетании с благоприятными прогностическими маркерами ОМЛ.

* Markers should not be used as an adverse prognostic marker if they co-occur with favorable-risk AML subtypes.

ASXL1 — additional sex combs like 1, *CBFB-MYH11* — core binding factor β — myosin heavy chain 11, *CEBPA* — CCAAT enhancer binding protein alpha, *DEK-NUP214* — DEK nucleoporin 214kDa, *FLT3-ITD* — *fms*-related tyrosine kinase 3 — internal tandem duplication, *GATA2* — GATA-binding protein 1, *MECOM(EV11)* — MDS1 and EV11 complex locus (ecotropic viral integration site 1), *MLLT3-KMT2A* — mixed-lineage leukemia translocated to chromosome 3 — *KMT2A*, *NPM1* — nucleophosmin 1, *RUNX-RUNX1T1* — runt-related transcription factor; translocated to 1, *RUNX1* — runt-related transcription factor 1, *TP53* — tumor protein p53

Для целесообразного применения новых противоопухолевых агентов необходим комплексный диагностический подход к исследованию опухолевых клеток у отдельного пациента при ОЛ.

Цель обзора — обобщить современное представление о значении ИЛ-3 и его рецептора CD123 в патогенезе острых лейкозов.

Влияние цитокинов на лейкоэмические клетки

Признаками молекулярно-генетической гетерогенности опухолевых клеток ОЛ могут быть различия в чувствительности к цитокинам и факторам роста [8].

Пролиферация и дифференцировка нормальной кроветворной клетки определяются как внутриклеточными событиями, так и сигналами извне: цитокинами, клетками микроокружения и другими клетками крови [9]. Цитокины секретируются клетками многих тканей и регулируют гемопоэз, участвуют в передаче межклеточного сигнала, в воспалительных реакциях, хемотаксисе, иммуносупрессии, ангиогенезе [9]. Они характеризуются плеiotропностью, взаимозаменяемым биологическим эффектом и отсутствием антигенной специфичности [10]. В настоящее время номенклатура цитокинов содержит более 200 пептидов. Классифицируют цитокины по строению самих молекул, структуре рецепторов к ним и по функциональной активности [10]. Условно цитокины, регулирующие гемопоэз, можно разделить по времени воздействия на три категории: оказывающие влияние на клеточный цикл примитивных клеток-предшественников (раннедействующие), среднедействующие линейно неспецифические и поздно действующие, поддерживающие пролиферацию и созревание коммитированных клеток-предшественников [9]. Такая классификация цитокинов неоднозначна ввиду их плеiotропности, способности к взаимному аддитивному или подавляющему эффекту [9]. К раннедействующим цитокинам, регулирующим клеточный цикл и дифференцировку ранних этапов кроветворения, можно отнести такие факторы, как интерлейкин-3 (ИЛ-3), фактор роста стволовых клеток, лиганд FLT3, интерлейкин-6, интерлейкин-11, основной фактор роста фибробластов и др. [9, 10].

Злокачественные клетки характеризуются способностью к аутокринной регуляции либо посредством самостоятельной секреции необходимых факторов роста, либо путем увеличения экспрессии рецепторов для этих факторов [8]. Кроме того, в результате определенных генетических нарушений опухолевые клетки приобретают способность бесконтрольно, без воздействия внешних факторов, генерировать сигналы к пролиферации [8].

В ранних исследованиях *in vitro* опухолевые клетки ОМЛ демонстрировали гетерогенность в чувствительности к цитокинам. Пролиферация опухолевых клеток одних больных была цитокиннезависимой (автоном-

ной), тогда как рост клеток других больных происходил только при добавлении к ним интерлейкинов [11]. В экспериментах на мышах подтверждены различия в цитокиновой регуляции лейкоэмических клеток одних больных от других. Приживление опухолевых клеток наблюдали только у генетически модифицированных мышей, у которых вырабатывались цитокины человека [12]. При определении прогностического значения такой гетерогенности у больных ОМЛ выяснили, что свойство автономного роста лейкоэмических клеток *in vitro* четко ассоциируется с более низкой частотой достижения ремиссии и значительно большим риском развития рецидива в течение 5 лет в сравнении с больными, чьи образцы опухолевых клеток пролиферировали только в присутствии экзогенного фактора роста [13].

Немало работ сосредоточено на поисках терапевтического применения рекомбинантных цитокинов в терапии ОЛ. Клиническое применение таких ростовых факторов, как гранулоцитарный колоние-стимулирующий фактор, гранулоцитарно-моноцитарный колоние-стимулирующий фактор (ГМ-КСФ) и ИЛ-3, основывалось на идее эффекта прайминга [11]. Под влиянием экзогенного фактора цитокинзависимые лейкоэмические клетки переходят в S-фазу, становясь чувствительными к циклоспецифическим препаратам [11]. Однако при клинических испытаниях такой метод не оказал убедительного эффекта: в единичных работах сообщают об эффективности применения ГМ-КСФ, проявляющейся увеличением частоты достижения полных ремиссий [14], в других исследованиях отсутствовал терапевтический эффект [15]. В литературе описаны спорадические случаи достижения ремиссии при применении рекомбинантного фактора роста без цитостатической терапии [16]. Такие противоречивые результаты свидетельствуют о разной чувствительности опухолевых клеток ОМЛ к цитокинам. Эти различия могут быть обусловлены изменениями профиля экспрессии рецепторов к цитокинам на поверхности опухолевых клеток и присутствием мутаций, модулирующих их чувствительность и специфичность.

При исследовании избирательного эффекта отдельных интерлейкинов R. Delwel и соавт. отметили, что ИЛ-3 и ГМ-КСФ, в сравнении с другими факторами, наиболее способны *in vitro* индуцировать пролиферацию опухолевых клеток [17]. В норме ИЛ-3 регулирует пролиферацию и дифференцировку нормальных кроветворных клеток-предшественниц на ранних этапах гемопоэза [18]. В экспериментальных моделях подтверждена немаловажная роль ИЛ-3 в лейкозогенезе, поскольку этот цитокин препятствует апоптозу опухолевых клеток и способствует их автономному росту [19]. Показано, что рецептор к этому цитокину экспрессируется на нормальных кроветворных клетках [20, 21]. Подтверждена высокая экспрессия рецептора ИЛ-3 на опухолевых клетках ОМЛ и В-ОЛЛ

и, что примечательно, в популяции лейкоэмических клеток с фенотипом CD34⁺CD38⁻ [22]. В связи с этим необходимо более глубокое изучение биологических эффектов в лейкозогенезе, реализуемых ИЛ-3 и опосредованных его рецептором.

Интерлейкин-3

ИЛ-3 — это мономер из 133 аминокислотных остатков, который образуется преимущественно активированными Т-лимфоцитами, а также натуральными киллерами, тучными клетками и мегакариоцитами [18]. Гены, кодирующие ИЛ-3 и ГМ-КСФ, располагаются на 5-й хромосоме в регионе 5q [18]. В одном из первых исследований D. Metcalf и соавт. [23] продемонстрировали *in vivo* «мультиколониестимулирующее» свойство ИЛ-3. При введении рекомбинантного ИЛ-3 мышам они наблюдали повышенное образование эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов [23]. ИЛ-3 способствует выживанию и пролиферации мультипотентных кроветворных клеток [20]. На поздних стадиях кроветворения ИЛ-3 регулирует пролиферацию клеток гранулоцитарной и моноцитарной линий дифференцировки [21]. Кроме того, ИЛ-3 усиливает пролиферацию эндотелиальных клеток, способствует их миграции, стимулирует ангиогенез [18].

Предполагали, что свойство ИЛ-3 индуцировать пролиферацию клеток гранулоцитарного роста может быть полезно при миелосупрессии [24]. Эта гипотеза была проверена в нескольких клинических исследованиях, в которые были включены больные ОМЛ [24], миелодиспластическими синдромами (МДС) и апластической анемией [25]. Однако убедительных данных, свидетельствующих о пользе применения рекомбинантного ИЛ-3, не получено. Кроме того, терапия рекомбинантным ИЛ-3 сопровождалась нежелательными явлениями [24], вплоть до фатальных [26], которые были обусловлены активацией моноцитарно-макрофагальной системы, массивным высвобождением фактора некроза опухоли α и других маркеров воспаления [26].

В настоящее время продолжают исследовать роль ИЛ-3 в патогенезе ОЛ. Проведено исследование, в котором показано, что ИЛ-3 формирует резистентность опухолевых клеток ОМЛ с мутацией *FLT3-ITD* к препаратам, ингибирующим тирозинкиназу *FLT3* [19], и активирует другие сигнальные пути *JAK* и *STAT5*, вследствие чего опухолевые клетки избегают апоптоза, индуцированного ингибированием *FLT3* [19]. Для полного клиренса мутированных клеток ОМЛ может быть необходимо одновременное ингибирование *FLT3* и *JAK* тирозинкиназ [19].

Таким образом, ИЛ-3 является одним из регуляторов кроветворения как в норме, так и при гемопатических опухолях. Биологический эффект ИЛ-3 осуществляется в результате его взаимодействия с высокоизбирательным мембранным рецептором.

Рецептор интерлейкина-3: строение и механизм передачи сигнала

Рецептор ИЛ-3 состоит из двух частей: α -цепи, предназначенной для связывания ИЛ-3, и β -цепи, ответственной за передачу сигнала внутрь клетки. β -субъединица является общей для α -цепей рецепторов ИЛ-3, ИЛ-5 и ГМ-КСФ, объединяя их в семейство рецепторов [27]. Рецептор ИЛ-3 относится к мембранным рецепторам 2-го типа, которые характеризуются отсутствием собственной тирозинкиназной активности [10]. Каждая часть рецептора состоит из трех типичных доменов: внеклеточного, трансмембранного и цитоплазматического (внутриклеточного) (рис. 1) [18]. Цитокинспецифичной α -цепи в номенклатуре кластеров дифференцировки присвоен маркер CD123. При поверхностной изолированной экспрессии CD123 (без β -субъединицы) интерлейкин связывается с рецептором с очень низкой аффинностью [18]. В результате связывания ИЛ-3 с α -цепью между α - и β -цепью образуется дисульфидный мостик, и формируется высокоаффинный гетеродимерный рецепторный комплекс [27]. Цитоплазматический домен β -цепи ассоциирован с нерепторными тирозинкиназами семейства *JAK*, которые активируются путем аутофосфорилирования в ответ на опосредованную лигандом димеризацию рецептора [18]. Комплекс «*JAK*-рецептор» фосфорилирует транскрипционные факторы *STAT* (signal transduction and activators of transcription) по остаткам тирозина, которые в конечном этапе регулируют экспрессию

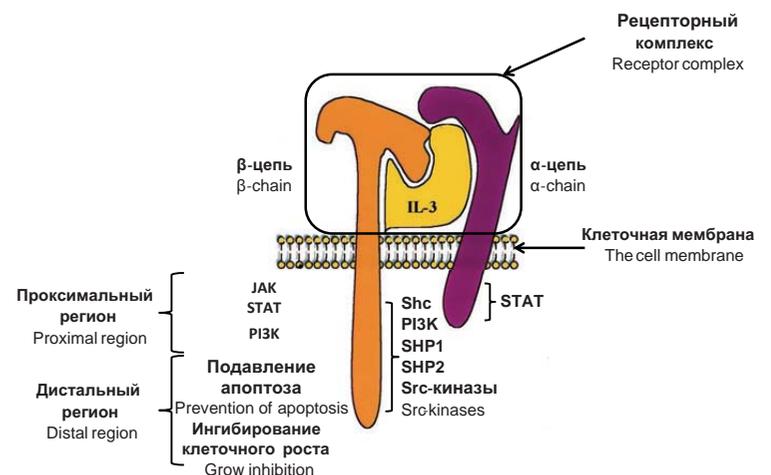


Рисунок 1. Строение рецептора интерлейкина-3 и пути передачи сигнала (рисунок адаптирован из [27]): *JAK* — янус-ассоциированная киназа, *STAT* — сигнальная трансдукция и активаторы транскрипции, *PI3K* — фосфатидилинозитол 3-киназа, *SHP1* — SH2, содержащий фосфатазу-1 гемопоэтических клеток, *SHP2* — SH2, содержащий фосфатазу-2 гемопоэтических клеток, *Src*-киназы — киназа клеточной саркомы

Figure 1. The structure of interleukin-3 (IL-3) receptor and IL-3-induced signal transduction pathways (adapted from [27]): *JAK* — Janus associated kinase, *STAT* — signal transduction and activators of transcription, *PI3K* — phosphatidylinositol 3-kinase, *SHP1* — SH2 containing hematopoietic cell phosphatase-1, *SHP2* — SH2 containing hematopoietic cell phosphatase-2, *Src*-kinases — cellular sarcoma kinase

генов, ответственных за процессы пролиферации, дифференцировки и блокирование апоптоза [18]. Кроме сигнального пути JAK/STAT ИЛ-3 реализует «запуск» других каскадных процессов, передающих сигналы от рецептора к ядру [27]. Внутриклеточный домен β -цепи состоит из двух функционально различных регионов: проксимального, протяженностью до 589 аминокислотного остатка, и дистального — с 589 до 881 (рис. 1) [18]. Проксимальный регион участвует в «запуске» сигнальных путей, последовательно вовлекающих белки JAK, c-Src (cellular sarcoma kinase), STAT, и PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase); регулирует связанные с пролиферацией гены *c-myc*, *pin-1* и ген онкостатина М [27]. Дистальный регион участвует в регуляции генов, ответственных за ингибирование клеточного роста и поддержание жизнеспособности кроветворных клеток [27]. Этот же регион домена взаимодействует с адаптерным белком SHC1, который не обладает собственной ферментной активностью, но опосредует белок-белковые взаимодействия в определенных сигнальных каскадах (Grb2, GTP exchange factor, mSos, Ras) [27].

Цитоплазматический домен α -цепи в несколько раз короче, чем у β -цепи, и состоит из 53 аминокислотных остатков [27]. α -цепь, связывающая лиганд, тоже обладает способностью к сигнальной трансдукции путем активации STAT5 и регуляции пролиферации [18]. Определена роль цитоплазматического домена α -цепи и в индукции транскрипции протоонкогенов *c-fos* и *c-jun* [27].

Активация нескольких сигнальных путей, в особенности p38 и PI3K/АКТ, приводит к усилению экспрессии антиапоптотических генов, одним из которых является ген *Mcl-1* [28]. Этот ген относится к семейству генов *Bcl-2* и является одним из генов раннего ответа, отличающихся быстрой активацией в ответ на стимуляцию извне [28]. В результате сигнальной трансдукции, запускаемой ИЛ-3, происходит активация гена *Mcl-1*, что приводит к подавлению апоптоза и поддержанию жизнеспособности кроветворных клеток [28].

Ген, кодирующий α -цепь рецептора ИЛ-3, находится в псевдоаутосомной области XY на половых хромосомах X и Y [18]. β -субъединица рецепторов к ИЛ-3/ИЛ-5/ГМ-КСФ у человека кодируется геном, располагающимся на 22-й хромосоме [18]. Мутации генов, кодирующих субъединицы рецептора ИЛ-3, встречаются очень редко, в т. ч. у больных с заболеваниями системы крови, вероятно, в связи с несовместимостью большинства таких мутаций с жизнью [18]. Известно лишь, что при редком заболевании — легочном альвеолярном протеинозе обнаруживают мутацию гена β -цепи [18]. Это заболевание характеризуется нарушением взаимодействия ГМ-КСФ с рецептором и накоплением в альвеолах сурфактантподобного липопротеинового вещества [18].

Экспрессия α -цепи рецептора ИЛ-3 на нормальных клеточных популяциях

Подробно описан характер экспрессии α -цепи рецептора ИЛ-3 (CD123) на нормальных клеточных популяциях. Обнаружена экспрессия антигена на части CD34-позитивных клеток пуповинной крови [20], костного мозга и периферической крови [21]. Некоммитированные CD34⁺ кроветворные клетки характеризуются низкой экспрессией CD123 [29]. Нейтрализация α -цепи рецептора ИЛ-3 с использованием моноклональных антител (МКА) на CD34⁺ предшественниках приводила к весьма умеренному снижению репопулирующей способности кроветворных клеток у мышей с иммунодефицитом, что позволило заключить, что ранние кроветворные предшественники лишь частично экспрессируют CD123 [29].

По мере дифференцировки клетки-предшественницы экспрессия α -цепи рецептора к ИЛ-3 увеличивается на клетках миелоидного ростка и сохраняется до поздних стадий созревания [30]. Низкая экспрессия сохраняется на гранулоцитах, несколько выше она бывает на эозинофилах и моноцитах [30]. Базофилы и плазмоцитоидные дендритные клетки (ПДК) характеризуются наиболее высокой экспрессией CD123. Мембранная экспрессия рецептора на ПДК отличается самыми высокими значениями интенсивности флуоресценции, отражающей плотность экспрессии рецептора при иммунофенотипическом исследовании [30].

Предшественники В-клеток демонстрируют дискордантную экспрессию антигенов CD34 и CD123. На ранних CD34⁺ предшественниках В-клеток α -цепь рецептора к ИЛ-3 отсутствует, затем, по мере созревания и одновременно с потерей экспрессии антигена CD34, появляется умеренная экспрессия CD123 [31]. На зрелых лимфоидных клетках умеренная гетерогенная экспрессия присутствует на В-лимфоцитах, преимущественно зрелых, тогда как на Т-лимфоцитах этот рецептор чаще отсутствует [30].

Нормобласты, предшественники эритроидной линии, практически не экспрессируют CD123 [30], однако нельзя исключить экспрессию на самых ранних стадиях [21]. Подобный характер экспрессии наблюдается и на мегакариоцитах [21]. На рисунке 2 представлены значения интенсивности флуоресценции клеточных популяций, полученные при исследовании костного мозга здоровых доноров методом проточной цитофлуориметрии [30].

Экспрессия α -цепи рецептора интерлейкина-3 при острых миелоидных лейкозах

U. Testa и соавт. [32] сообщили об ассоциации экспрессии CD123 при ОЛ с некоторыми свойствами опухолевых клеток, обнаружив при исследовании методом проточной цитофлуориметрии экспрессию α -цепи

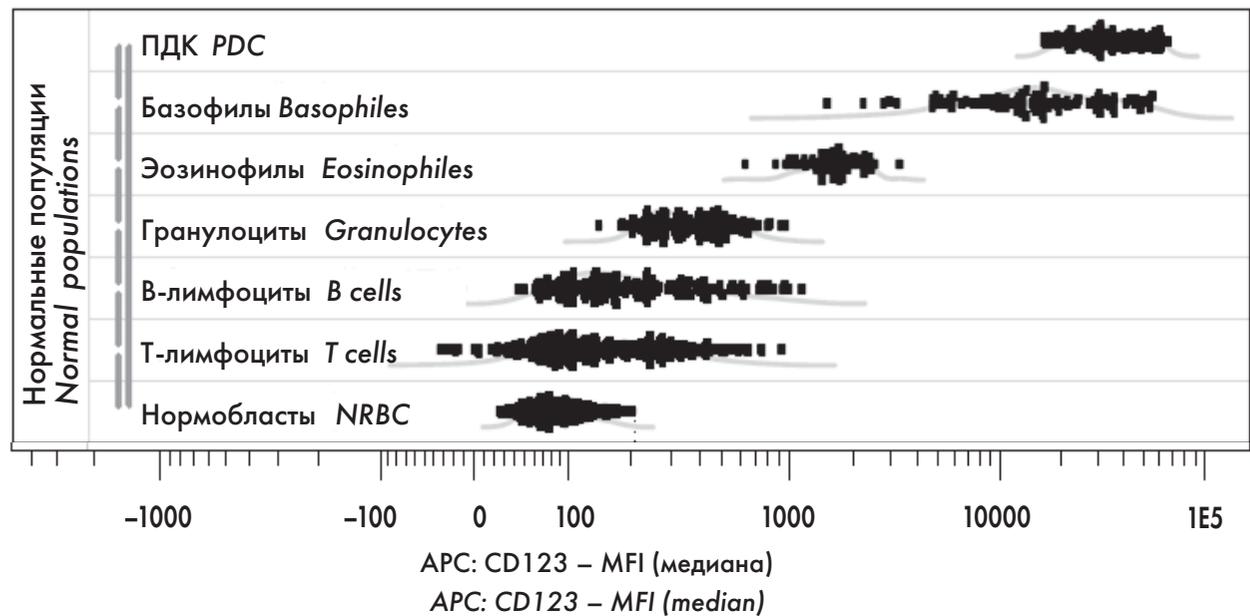


Рисунок 2. Интенсивность флуоресценции (MFI) CD123 на нормальных клеточных популяциях [30]: ПДК — плазмоцитоподобные дендритные клетки
Figure 2. Mean fluorescence intensity (MFI) for normal cells [30]: PDC — plasmacytoid dendritic cells, NRBC — nucleated red blood cells

рецептора ИЛ-3 у 45 % больных ОМЛ, другие исследователи сообщили о 50–77,9 % случаев у больных ОМЛ [22, 30, 33], при этом экспрессия сочеталась с большим процентным содержанием бластных клеток в крови и костном мозге и их высоким пролиферативным потенциалом [32]. В бластных клетках, экспрессирующих CD123, наблюдали повышенное фосфорилирование транскрипционного фактора STAT5 в сравнении с CD123-негативными бластными клетками [32]. При изучении прогностического значения CD123 при ОМЛ выявили обратную корреляцию экспрессии этого маркера с частотой достижения ремиссии [32]. Результаты этого исследования подтверждены в работах по изучению CD123. М. Rollins-Raval и соавт. [34] исследовали рецептор ИЛ-3 методом иммуногистохимического окрашивания трепанобиоптатов костного мозга больных ОМЛ. Экспрессия CD123 различной степени интенсивности была выявлена в 40 % случаев и коррелировала с содержанием бластных клеток в костном мозге, с их моноцитоподобной дифференцировкой и с CD34-негативностью [34]. А. Е. Bras и соавт. [30] изучили экспрессию CD123 у больных ОЛ и подтвердили отсутствие экспрессии α -цепи рецептора ИЛ-3 на нормобластах, что позволяет рассматривать эту популяцию клеток как дополнительный негативный контроль при проведении иммунофенотипического анализа образцов опухолевых клеток [30]. Экспрессию CD123 обнаружили у половины больных ОМЛ, а при использовании классификации FAB (French-American-British) наименьшие значения экспрессии установили при эритробластном и мегакариобластном лейкозах [30].

Установлены особенности мутационного статуса опухолевых клеток ОМЛ с экспрессией α -цепи рецептора

ИЛ-3. А. Е. Bras и соавт. обнаружили, что мутация *FLT3*-ITD, являющаяся предиктором неблагоприятного течения ОМЛ, ассоциирована с высокой экспрессией CD123 [30]. При ОМЛ, протекающих с мутацией *FLT3*-ITD, выявляют более высокие значения как доли CD123⁺ опухолевых клеток, так и интенсивности флуоресценции антигена [30, 34]. Обнаружена закономерность сочетания высокой экспрессии CD123 с изолированной мутацией гена *нуклеофозмина 1 (NPM1)* [30]. В норме этот ген вовлечен в синтез рибосом, процессы поддержания стабильности генома и регуляцию транскрипции. Ген *NPM1* находится на длинном плече хромосомы 5, а наиболее типичной мутацией является вставка четырех нуклеотидов в экзоне 12. Такую мутацию обнаруживают в 20–30 % случаев всех ОМЛ [4]. Определение мутации *NPM1* обычно ассоциируется с благоприятным прогнозом заболевания, но только при отсутствии мутации *FLT3*-ITD с высоким аллельным соотношением [4]. А. Е. Bras и соавт. отметили сочетание высокой экспрессии α -цепи рецептора ИЛ-3 с мутацией *NPM1* при ОМЛ [30], что подтвердили М. Rollins-Raval и соавт. [34] при проведении иммуногистохимического исследования, выявив ассоциацию экспрессии CD123 с промежуточным цитогенетическим риском.

N. L. Wittwer и соавт. [35] провели эксперименты с использованием колонии модифицированных опухолевых клеток TF-1 (клетки эритробластного лейкоза человека). Клетки, экспрессирующие CD123, пролиферировали и выживали при концентрациях ИЛ-3 в 10–100 раз меньше, чем требовались для контрольного образца клеток, которые были представлены теми же клетками эритробластного лейкоза, но не модифицированными по экспрессии CD123

путем применения лентивируса, кодирующего рецептор CD123. В CD123^{high} опухолевых клетках наблюдали активное фосфорилирование тирозинкиназ ERK, AKT и STAT5, при этом не было повышения экспрессии общей β -цепи [35], что косвенно подтверждает способность α -цепи рецептора ИЛ-3 самостоятельно, без β -цепи, участвовать в сигнальной трансдукции и регулировать пролиферацию и выживание лейкемических клеток [27]. В серии экспериментов на мышах выявили, что повышенный сигналинг ИЛ-3 препятствует приживлению нормальных гемопоэтических клеток, нарушая процесс адгезии [35]. При изучении этого явления в миелоидных опухолевых клетках увеличение количества α -цепи рецептора ИЛ-3 достоверно ассоциировалось со снижением на них экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 (C-X-C chemokine receptor type 4). Значимых изменений экспрессии других факторов адгезии не обнаружили. В норме сигналинг SDF-1 (stromal derived factor) — CXCR4 усиливает адгезию, способствует подвижности клеток, хемотаксису и миграции [35]. Повышенная экспрессия CD123, помимо усиления пролиферации, влияет на взаимодействие лейкемических клеток со стромальным микроокружением костного мозга и усиливает их способность к миграции и выходу в периферическую кровь.

Экспрессия α -цепи рецептора ИЛ-3 на клетках с фенотипом CD34⁺CD38⁻ при ОМЛ

В исследованиях, посвященных изучению гетерогенности опухолевой популяции, обнаружили минорный субклон опухолевых клеток, отличающийся очень медленным делением [36]. При ОЛ существует фракция ранних лейкемических клеток — так называемых лейкоз-иницирующих клеток (ЛИК) — способных к неограниченному самоподдержанию [37]. Такие клетки определяются как популяция, способная инициировать лейкоз при трансплантации мышам с иммунодефицитом и продолжать образовывать колонии лейкемических клеток при серийных трансплантациях [37, 38]. Эти клетки характеризуются способностью к самообновлению, могут быть покоящимися, устойчивыми к индукции апоптоза и обладают механизмами вывода лекарственных средств из клетки [37]. Вышеперечисленные качества способствуют формированию резистентности этих клеток к химиотерапевтическому воздействию [37]. В 75 % случаев ОМЛ опухолевые клетки экспрессируют антиген CD34, в связи с чем поиски ЛИК сосредоточены в CD34⁺ популяции [37]. Иммунофенотип CD34⁺CD38⁻ описан как наиболее свойственный для ЛИК, поскольку такие клетки способны приживаться и образовывать колонии при трансплантации мышам с иммунодефицитом [38]. ЛИК могут находиться во фракции с фенотипом CD34⁺CD38⁺ и даже

в популяции, не экспрессирующей антиген CD34 [37]. Уникального маркера, идентифицирующего ЛИК даже среди субпопуляции CD34⁺CD38⁻, до сих пор не найдено, однако выделены некоторые наиболее характерные маркеры, например CD47, CD96, CLL-1, CD123 и др. [37]. Среди этих антигенов CD123 представляет особый интерес. С. Т. Jordan и соавт. [22] показали, что бластные клетки ОМЛ с фенотипом CD34⁺CD38⁻, которые инициируют развитие лейкемии у мышей с иммунодефицитом, характеризуются высокой экспрессией α -цепи рецептора ИЛ-3. В этом исследовании нормальные кроветворные клетки с фенотипом CD34⁺CD38⁻ практически не экспрессировали этот белок. Популяция клеток с фенотипом CD34⁺CD38⁻CD123⁺ при трансплантации мышам с иммунодефицитом образовывала и поддерживала лейкоз *in vivo* [22]. Однако в результатах этой работы не обнаружили активации фосфорилирования белков сигнальной трансдукции (STAT, MAPK и AKT) при воздействии ИЛ-3, что не согласуется с результатами N. L. Wittwer и соавт. [35]. Авторы заключили, что CD123 является высокоспецифичным маркером ЛИК, однако его повышенная экспрессия не усиливает передачу сигнала через ИЛ-3 опосредованные пути [22].

В исследовании на небольшой группе больных ОМЛ ($n = 34$) А. Al-Mawali и соавт. [39] из каждого образца опухолевых клеток ОМЛ CD123⁺, протекавших с мутацией FLT3-ITD ($n = 7$), выделили две субпопуляции CD34⁺CD38⁻ в зависимости от экспрессии CD123: одна с фенотипом CD34⁺CD38⁻CD123⁺, другая — CD34⁺CD38⁻CD123⁻. При повторном молекулярном исследовании этих субпопуляций выявили мутацию FLT3-ITD в каждом из образцов опухолевых клеток CD34⁺CD38⁻ с экспрессией CD123 (у 7 из 7), а во фракции CD34⁺CD38⁻CD123⁻ мутацию обнаружили лишь в одном случае (у 1 из 7) [39]. Авторы заключили, что мутация FLT3-ITD может возникать на ранних этапах лейкозогенеза как одно из первичных событий, присутствуя во фракции лейкемических клеток с иммунофенотипом CD34⁺CD38⁻CD123⁺, определяемой как ранние лейкемические клетки или ЛИК [39]. Такие клетки могут быть причиной развития рецидивов, протекавших с мутацией FLT3-ITD, не обнаруживавшейся в дебюте ОМЛ.

При изучении прогностического значения популяции CD34⁺CD38^{low/-}CD123⁺ высокое содержание субпопуляции опухолевых клеток с фенотипом CD34⁺CD38^{low/-}CD123⁺ в костном мозге в дебюте заболевания коррелировало с ответом на индукционное химиотерапевтическое воздействие и показателями общей выживаемости [40]. Наряду с неблагоприятными хромосомными aberrациями выявление популяции CD34⁺CD38^{low/-}CD123⁺ более чем 15 % от всей опухолевой популяции ассоциировалось с отсутстви-

ем у больных полной ремиссии. Наличие более 1 % такой популяции негативно сказалось на безрецидивной выживаемости [40].

Экспрессия α -цепи рецептора ИЛ-3 при ОЛЛ

N. M. Hassanein и соавт. [31] выявили дискордантную экспрессию CD34 и CD123 на нормальных В-клеточных предшественниках: экспрессия α -цепи рецептора ИЛ-3 появлялась одновременно с потерей антигена CD34. Однако опухолевые клетки В-ОЛЛ, напротив, в 91 % случаев характеризовались конкордантной экспрессией двух антигенов (в 41 образце опухолевых клеток из 45 исследованных образцов): в 80 % случаев наблюдали экспрессию обоих антигенов CD34 и CD123, а в 11 % — оба не обнаруживались [31].

Экспрессия α -цепи рецептора ИЛ-3 при В-ОЛЛ встречалась в 30–89,6 % случаев [30, 41]. Высокие значения экспрессии CD123 сочетались с наличием гипердиплоидии [30], обнаружение которой у детей является благоприятным прогностическим фактором, а у взрослых сопряжено с высоким риском появления двух и более структурных аномалий кариотипа и имело неблагоприятное прогностическое значение [42]. Статистически значимые более высокие показатели экспрессии и интенсивности флуоресценции антигена CD123 выявлены при В-ОЛЛ с транслокацией (9;22) [41]. Из инициальных параметров отмечена негативная корреляция доли CD123⁺ опухолевых клеток с возрастом больных В-ОЛЛ [30]. Экспрессия α -цепи рецептора ИЛ-3 при В-ОЛЛ не ассоциировалась ни с персистенцией минимальной остаточной болезни после индукционной химиотерапии, ни с отличиями в показателях безрецидивной выживаемости [41].

При изучении экспрессии CD123 у больных Т-ОЛЛ получены различные результаты. В отличие от ОМЛ и В-ОЛЛ, α -цепь рецептора ИЛ-3 практически не экспрессируется опухолевыми Т-лимфообластами, что согласуется с отсутствием этого рецептора на нормальных Т-лимфоидных предшественниках и Т-лимфоцитах [30]. По другим данным, в 42 % случаев бластные клетки Т-ОЛЛ у взрослых больных (реже у детей — 27 %) низко экспрессируют антиген [43]. Похожие данные (43,3 %) получили E. Angelova и соавт. [41], но они анализировали данные у взрослых и детей вместе. Частота экспрессии CD123 в подвариантах Т-ОЛЛ была обратно пропорциональна степени зрелости опухолевых клеток. Среди лейкозов из ранних Т-клеточных предшественников (ЕТР-ОЛЛ) экспрессию α -цепи рецептора ИЛ-3 выявили в 83 % случаев, а среди зрелых Т-клеточных лейкозов значительно меньше — всего в 21 % [43]. Часто наблюдали коэкспрессию CD123 с миелоидными маркерами CD33 и CD117 [43]. Как и у больных В-ОЛЛ экспрессия α -цепи рецептора ИЛ-3 не коррелировала с результатами эффективности терапии Т-ОЛЛ [43].

Опухоль из бластных плазмоцитоидных дендритных клеток

В 2008 г. опухоль из бластных ПДК (ОБПДК) внесена в классификацию ОМЛ и родственных новообразований ВОЗ. В 2016 г. это заболевание выделено в отдельную нозологическую единицу в классификации миелоидных новообразований, учитывая уникальность клинического течения и биологические особенности этой опухоли [44]. ОБПДК — редкая агрессивная опухоль кроветворной ткани, субстратом которой являются бесконтрольно пролиферирующие ПДК. ОБПДК обычно манифестирует с поражения кожи, затем вовлекаются костный мозг, лимфатические узлы, происходит лейкемизация процесса и появляются экстрамедуллярные очаги [44]. Опухолевые ПДК имеют фенотип CD4⁺CD56⁺ и характеризуются высокой яркой, как и нормальный аналог ПДК, экспрессией CD123 [44]. Больные ОБПДК имеют очень плохой прогноз: при проведении стандартной химиотерапии медиана общей выживаемости составляет всего 8–14 мес [44].

При ОМЛ в 5 % случаев, помимо основной опухолевой популяции, обнаруживают небольшое количество клональных ПДК [45]. W. Xiao и соавт. [45] установили, что ОМЛ, протекающие с популяцией ПДК, преимущественно ассоциированы с миелодисплазией или с предшествующей химиотерапией, из 24 больных лишь у 3 были ОМЛ *de novo*. Кроме того, наличие популяции ПДК ассоциировалось с мутациями RUNX1 (обнаружена у 14 из 24 больных, 58 %) и с aberrантной экспрессией антигенов CD19, CD2 и CD7 на бластных миелоидных клетках (обнаружены у 17 из 24 больных, 71 %) [45]. Иммунофенотип популяции ПДК при ОМЛ характеризовался отсутствием экспрессии CD56, в отличие от ОБПДК. В результате молекулярного исследования авторы подтвердили клональное родство ПДК с миелоидными бластными клетками [45]. Больные ОМЛ с наличием популяции ПДК имели неблагоприятное течение заболевания, медиана общей выживаемости у них составила 20 мес [45].

Перспективы лечения ОЛ при экспрессии α -цепи рецептора ИЛ-3

Поскольку мембранная экспрессия CD123 усиливает ИЛ-3-сигналинг и формирует повышенный пролиферативный потенциал, что дает преимущества в выживании лейкемическим клеткам, одни из первых работ были направлены на способы блокирования этого рецептора с использованием МКА [29, 46]. Использование *in vitro* рекомбинантных МКА к CD123 (CSL360) позволило нейтрализовать действие ИЛ-3 и продемонстрировало противоопухолевый эффект [29]. *Ex vivo* при применении МКА в дозе 3 мг/кг опухолевые клетки переставали пролиферировать при добавлении в образец ИЛ-3, что подтверждало

блокирование его рецептора [46]. По результатам I фазы клинического исследования применения агента CSL360 у 40 больных ОМЛ отмечена удовлетворительная переносимость препарата. Однако ответ был получен только у 2 больных, и лишь у одного из них достигнута полная ремиссия после 17 введений препарата [46]. Таким образом, блокирования α -цепи рецептора ИЛ-3 при помощи МКА недостаточно для достижения противоопухолевого эффекта [46].

Гуманизированное антитело CSL362 (талакотузумаб) к CD123 характеризуется высокой аффинностью Fc-фрагмента к рецептору натуральных киллеров CD16 (Fc γ RII) [47]. *In vitro* и в моделях на мышах показан хороший цитотоксический эффект препарата CSL362 на опухолевые клетки ОМЛ, в том числе на субпопуляцию с фенотипом CD34⁺CD38⁻CD123⁺ [47]. Однако, согласно результатам II фазы клинического исследования SAMBA (NCT 02992860), при применении талакотузумаба отмечены невысокая эффективность препарата (общий ответ составил всего 8,3%), и большая частота нежелательных явлений у пожилых больных ОМЛ и МДС из группы высокого риска после безуспешной терапии гипометилирующими препаратами [48]. Неутешительные результаты получены при применении талакотузумаба совместно с децитабином у больных, которым не показана высокодозная химиотерапия (NCT02472145) [48].

Перспективным методом лечения является применение МКА, конъюгированных с разнообразными лекарственными средствами. Первым МКА, одобренным Управлением по контролю качества продуктов и лекарственных средств США (Food and Drug Administration — FDA) и успешно используемым для лечения ОМЛ, является гемтузумаб-озогамицин (Милотарг), антитело к CD33, ковалентно связанное с цитотоксическим агентом калихеамицином. Антиген CD33 в 85–90% случаев экспрессируется миелоидными опухолевыми клетками, в связи с чем проведение стандартной химиотерапии с включением гемтузумаб-озогамицина позволяет добиться глубокого противоопухолевого ответа [49]. Подобным действием обладает молекула IMGN632, которая представляет собой антитело к CD123, связанное с новым алкилирующим ДНК цитотоксическим агентом IGN (псевдодимер индолинобензодиазепина) [50]. E. Angelova и соавт. изучили эффективность IMGN632 в культуре опухолевых клеток В-ОЛЛ и показали, что при применении препарата в небольших концентрациях происходила элиминация более чем 90% опухолевых В-клеток, при этом нормальные лимфоциты оставались интактными [41]. В настоящее время проводятся исследования по оценке безопасности и эффективности препарата IMGN632 у больных с рефрактерными ОМЛ и рецидивами заболевания (Р/Р ОМЛ), а также с другими опухолями системы крови, протекающими

с экспрессией CD123 (В-ОЛЛ, ОБПДК, миелопролиферативные заболевания) [50].

В 2018 г. FDA был одобрен таграксофусп (Элзонрис, SL-401) — первый препарат, зарегистрированный для лечения детей и взрослых больных ОБПДК [44]. Таграксофусп представляет собой МКА, конъюгированное с усеченным (без связывающего рецептор домена) токсином дифтерии [51]. Механизм действия препарата заключается в доставке к опухолевой клетке, экспрессирующей CD123, токсина дифтерии, который после интернализации в клетку нарушает синтез белка и индуцирует гибель клетки [51]. На этапе доклинических исследований SL-401 продемонстрировал хороший цитотоксический эффект в отношении бластных ПДК, превосходящий по воздействию стандартные цитостатические препараты [51]. По результатам I фазы клинического исследования таграксофуспа, в которое были включены 11 больных ОБПДК, общий ответ составил 78%, а полный ответ достигнут у 55% больных [51]. В другом исследовании, включавшем 47 больных, которым проводили терапию SL-401 в качестве первой линии терапии, общий ответ составил 90%, из них у 45% больных выполнили алло-ТГСК, общая выживаемость через 18 и 24 месяца составила 59 и 52% соответственно [44]. В лечении ОМЛ с применением SL-401 подобные результаты не достигнуты. В I фазе клинического исследования, включавшего 45 больных с Р/Р ОМЛ, этот препарат в качестве монотерапии показал приемлемый профиль токсичности, но убедительных результатов не было: у одного больного достигнута полная ремиссия, у двух — частичная [52]. Показано, что применение гипометилирующих агентов увеличивает чувствительность опухолевых клеток к SL-401 [53]. Это объясняют тем, что в клетках, нечувствительных к агенту SL-401, подавлена функция фермента DPH1 (Diphthamide biosynthesis protein 1), необходимого для осуществления цитотоксического действия токсина дифтерии [53]. Применение гипометилирующих препаратов позволяет преодолеть эту резистентность и в сочетании с SL-401 демонстрирует хороший противоопухолевый эффект [53]. В связи с этим исследуют эффективность использования SL-401 совместно с азациитидином или венетоклаксом у больных Р/Р ОМЛ и МДС группы высокого риска, а также у больных, которым не показана стандартная индукционная терапия (NCT03113643) [54]. Возможно, SL-401 будет более эффективен в качестве консолидирующего лечения у больных с ремиссией ОМЛ, но с персистенцией минимальной остаточной болезни. Исследование по эффективности этого препарата у этих больных проводится в настоящее время, окончательные результаты еще не опубликованы (NCT02270463) [54].

Одним из важных направлений в создании противоопухолевых препаратов для лечения ОЛ являются

ся биспецифические МКА, которые характеризуются одновременным связыванием с двумя мишенями. Обычно один сегмент комплементарен антигену, экспрессирующемуся на поверхности опухолевой клетки, а другой связывается с эффекторной клеткой, наиболее часто это ϵ -субъединица Т-клеточного рецептора [6]. В результате формирования такого межклеточного синапса происходит активация Т-лимфоцита, индукция клеточного ответа, секреции различных цитокинов и цитотоксических белков, приводящих к лизису опухолевых клеток [6]. Одним из таких препаратов является флотетузумаб (MGD-006), который является биспецифическим антителом, разработанным по формату DART (dual-affinity retargeting) к CD3 и CD123 [55]. I фазу клинического исследования препарата MGD-006 проводят в настоящее время (NCT02152956). В исследование включили больных рефрактерными ОМЛ и МДС, протекающими с содержанием бластных клеток более 10% в костном мозге, и рефрактерными к терапии гипометилирующими препаратами [55]. Согласно опубликованным предварительным результатам лечения 14 больных, которым проведена терапия в максимально допустимой дозе ≥ 500 нг/кг/день, терапевтический эффект наблюдали у 57% больных, а у 28% достигнута полная ремиссия. Противоопухолевый эффект был получен даже у больных из группы высокого риска, длительность ответа при этом сохранялась в течение 1–5,8 мес [55]. Токсичность 3-й степени и выше наблюдали лишь у 15,8% больных, наиболее частыми побочными эффектами были реакции, связанные с инфузией, а также синдром высвобождения цитокинов [55]. Изучают эффективность других биспецифических антител: агента JNJ-63709178 (Janssen Pharmaceuticals) у больных рефрактерными ОМЛ и рецидивами заболевания (NCT02715011) и молекулы XmAb14045 (Xencor Inc., NCT02730312), особенностью которой является более длительная циркуляция препарата в кровотоке [54].

A. Ehninger и соавт. исследовали коэкспрессию белков CD33 и CD123 на бластных клетках ОМЛ и определили ее в 69,5% случаев [33]. На этапе разработок находятся рекомбинантные агенты с триспецифическим действием на оба антигена и на рецептор натуральных киллеров (CD16, Fc γ RIII), *in vitro* демонстрирующие хороший противоопухолевый эффект и развитие антитело-опосредованной клеточной токсичности [56].

В применении биспецифических антител наиболее заметный прогресс достигнут в лечении рефрактерных В-ОЛЛ и рецидивов заболевания (P/P В-ОЛЛ). Этот успех обусловлен появлением биспецифической молекулы — блинатумомаба — формата BiTE (bi-specific T-cell engager) [6]. Два одноцепочечных переменных фрагмента этого антитела специфичны к CD19, а ϵ -субъединица — к CD3, линейно-специфическому маркеру Т-лимфоцитов [6]. Принципом действия бли-

натумомаба является создание временных синапсов между цитотоксическими Т-клетками и клетками-мишенями с экспрессией антигена CD19, что приводит к активации Т-клеток, пролиферации, высвобождению гранул с перфорином и гранзимами и индукции лизиса CD19⁺ опухолевых клеток [6]. В российском многоцентровом исследовании по применению блинатумомаба у больных с рецидивами ОЛЛ или рефрактерными ОЛЛ и больных с наличием минимальной остаточной болезни (МОБ) показана эффективность блинатумомаба при применении его в обеих группах: полные ремиссии были достигнуты у 67% больных, в том числе у 84% — достигнута МОБ-негативность [57]. Применение блинатумомаба позволяет достичь ремиссии у большинства больных с рецидивами после алло-ТГСК [57]. Однако, несмотря на достигнутые результаты терапии блинатумомабом, в настоящее время возникает проблема CD19-негативных рецидивов, составляющих около 30% среди больных после CD19-направленной терапии [58]. Эти рецидивы сопровождаются потерей антигена под действием мощного селективирующего воздействия терапии, направленной на CD19, и возникают вследствие различных механизмов: альтернативного сплайсинга CD19 мРНК, дисфункции корцепторного комплекса CD81 или миелоидного переключения [59].

В исследовании M. Ruella и соавт. [58] показана высокая экспрессия α -субъединицы рецептора к ИЛ-3 на опухолевых клетках В-ОЛЛ, в том числе на клетках с фенотипом CD34⁺CD38⁻. При динамическом исследовании фенотипа опухолевых клеток выявили, что CD123 продолжает экспрессироваться при рецидиве после CD19-направленной CAR-T (chimeric antigen receptor T-lymphocyte) терапии, являясь стойким маркером опухолевых клеток [58]. Опираясь на это наблюдение, исследователи в экспериментальных моделях на мышах создали биспецифические CAR-T к антигенам CD19 и CD123. Такое синхронное воздействие на два антигена *in vivo* снижало клиренс лейкоэмических клеток и уменьшало риск развития CD19-негативных рецидивов [58].

Адоптивная клеточная терапия с использованием генетически модифицированных Т-лимфоцитов больного, несущих на себе химерный антигенный рецептор (CAR, chimeric antigen receptor) к специфическим опухолевым антигенам, является большим быстро развивающимся направлением в терапии онкогематологических заболеваний. В различных фазах находятся десятки исследований по применению терапии CAR-T клетками для больных миелоидными и лимфоидными вариантами ОЛ с химерными рецепторами к опухолевым антигенам CD19, CD33, CD123, CLL1 и др. [54]. При разработке CAR-T к α -цепи рецептора ИЛ-3 исследования *in vivo* показали хорошие результаты в редукции опухоли и меньшую степень цитотоксического

влияния на нормальные кроветворные клетки [60]. В настоящее время клиническое применение адоптивной терапии, направленной на CD123, изучается в 11 зарегистрированных исследованиях [54]. Одной из проблем терапии стала токсичность по отношению к эндотелиальным клеткам и моноцитам, которые тоже экспрессируют в небольшом количестве CD123. Модификация химерного рецептора определенным образом позволяет снизить чувствительность CAR T-клеток к низкой антигенной экспрессии, позволяя распознавать клетки, только высоко экспрессирующие CD123 [60].

Следовательно, ИЛ-3 выполняет важные функции в нормальных кроветворных клетках-предшественниках. Этот цитокин регулирует пролиферацию мультипотентных клеток-предшественников, гранулоцитарной и моноцитарной линий дифференцировки [20, 21]. В лейкоэмических клетках ИЛ-3 поддерживает пролиферативный потенциал и подавляет апоптоз [19, 35]. Высокая экспрессия α -цепи рецептора ИЛ-3 опухолевыми клетками наблюдается у большинства больных ОМЛ и чаще коррелирует с неблагоприятными маркерами течения заболевания, такими как лейкоцитоз, величина массы опухоли, в некоторых работах показана взаимосвязь экспрессии CD123 с мутацией *FLT3-ITD* [30, 32]. В то же время показана ассоциация повышенной экспрессии CD123 с мутацией в гене *NPM1*, изолированное присутствие которой, напротив, позволяет отнести больных к прогностически благоприятной группе [30, 34]. При этом существуют неоднозначные результаты о корреляции экспрессии CD123 с результатами противоопухолевой терапии [32, 34]. ИЛ-3 формирует устойчивость к апоптозу, индуцированному лекарственным ингибированием тирозинкиназы *FLT3* при ОМЛ с мутацией *FLT3-ITD* [19]. Исследуют значение ИЛ-3 и его рецептора во взаимодействии лейкоэмических клеток с костномозговым микроокружением [35].

Литература

1. Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Российские многоцентровые исследования по лечению острых лейкозов. *Терапевтический архив*. 2019; 91(7): 4–13.
2. Паровичникова Е.Н., Лукьянова И.А., Троицкая В.В. и др. Результаты программной терапии острых миелоидных лейкозов в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. *Терапевтический архив*. 2018; 90(7): 14–22.
3. Гребенюк Л.А., Обухова Т.Н., Паровичникова Е.Н. и др. Аномалии хромосом 5, 7, 11 и 17 в комплексном кариотипе при миелодиспластических синдромах и острых миелоидных лейкозах. *Медицинская генетика*. 2018; 17(6): 39–47.
4. Döhner H., Estey E., Grimwade D. et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017; 129(4): 424–47. DOI: 10.1182/blood-2016-08-733196.
5. Пискунова И.С., Обухова Т.Н., Паровичникова Е.Н. и др. Структура и значение цитогенетических перестроек у взрослых больных Ph-

У больных ОЛЛ экспрессия CD123 не ассоциировалась с частотой достижения ремиссии и долгосрочным прогнозом [30, 41, 43]. В то же время при В-линейном варианте наблюдали корреляцию доли CD123⁺ опухолевых клеток с такими неблагоприятными факторами, как гипердиплоидия и t(9;22) [30, 41].

Изучают биологическую роль α -цепи рецептора ИЛ-3 во фракции опухолевых клеток ОМЛ с фенотипом CD34⁺C38⁻ [22]. Популяция с фенотипом CD34⁺C38⁻CD123⁺ способна индуцировать и поддерживать опухолевый процесс в экспериментальных моделях на мышах, что может характеризовать ее как лейкоз-иницирующую популяцию [22]. Преобладание опухолевых клеток с таким фенотипом у больного ОМЛ достоверно ассоциируется с худшими результатами лечения и неудовлетворительными показателями выживаемости [40].

Большое значение сигналинга ИЛ-3 в опухолевой прогрессии в сочетании с высокой экспрессией α -цепи рецептора ИЛ-3 на лейкоэмических клетках миелоидной и В-линейной направленности предопределило создание препаратов направленного действия. Продолжаются исследования методов блокирования ИЛ-3-опосредованного сигнала, разрабатывают МКА к CD123, индуцирующие антитело-опосредованную клеточную токсичность или конъюгированные с различными цитотоксическими агентами, развивается адоптивная терапия [46, 48, 50, 55, 60]. Перспективным направлением является комбинация стандартной химиотерапии и новых биологических средств для углубления противоопухолевого ответа [49]. Таким образом, исследование сигналинга ИЛ-3 является важным направлением изучения лейкозогенеза. Высокая экспрессия α -цепи рецептора ИЛ-3 на лейкоэмических клетках может быть фенотипическим проявлением их мутационного статуса. Исследование экспрессии CD123 на этапе первичной диагностики ОЛ позволит использовать препараты, направленные на этот антиген.

References

1. Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Russian multicenter clinical trials in acute leukemias. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2019; 91(7): 4–13. DOI: 10.26442/00403660.2019.07.000325. (In Russian).
2. Parovichnikova E.N., Luk'yanova I.A., Troitskaya V.V. et al. Results of program acute myeloid leukemia therapy use in National Medical Research Center for Hematology of the Ministry of Health of Russian Federation. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2018; 90(7): 14–22. DOI: 10.26442/terarkh201890714-22. (In Russian).
3. Grebenyuk L.A., Obukhova T.N., Parovichnikova E.N. et al. Anomalies of chromosomes 5, 7, 11 and 17 with complex karyotype in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia patients. *Meditinskaya genetika*. 2018; 17(6): 39–47. DOI: 10.25557/2073-7998.2018.06.39-47. (In Russian).
4. Döhner H., Estey E., Grimwade D. et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017; 129(4): 424–7. DOI: 10.1182/blood-2016-08-733196.
5. Piskunova I.S., Obukhova T.N., Parovichnikova E.N. et al. Structure and significance of cytogenetic abnormalities in adult patients with Ph-negative acute

- негативным острым лимфобластным лейкозом. *Терапевтический архив*. 2018; 90(7): 30–7.
6. Topp M.S., Gökbuğet N., Stein A.S. et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2015; 16(1): 57–66. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)71170-2.
 7. Басхаева Г.А., Паровичникова Е.Н., Бидерман Б.В. и др. Роль мутаций гена IKZF1 при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе у взрослых больных, получающих лечение по протоколам российского многоцентрового исследования. *Гематология и трансфузиология*. 2018; 63(1): 16–30. DOI: 10.25837/HAT.2018.80..1..002.
 8. Копнин Б.П. Современные представления о механизмах злокачественного роста: сходства и различия солидных опухолей и лейкозов. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2012; 5(3): 165–85.
 9. Дризе Н.И., Чертков И.Л. Цитокины и ростовые факторы в кроветворной системе. *Клиническая онкогематология*. Под ред. Волковой М.А. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2007; 81–8.
 10. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма. *Цитокины и воспаление*. 2002; 1(1): 9–16.
 11. Van der Lely N., De Witte T., Wessels J. et al. In vitro response of blasts to IL-3, GM-CSF, and G-CSF is different for individual AML patients: factors that stimulate leukemic clonogenic cells also enhance Ara-C cytotoxicity. *Ann Hematol*. 1994; 68(5): 225–232. DOI: 10.1007/bf01737421.
 12. Feuring-Buske M., Gerhard B., Cashman J. et al. Improved engraftment of human acute myeloid leukemia progenitor cells in beta 2-microglobulin-deficient NOD/SCID mice and in NOD/SCID mice transgenic for human growth factors. *Leukemia*. 2003; 17(4): 760–3. DOI: 10.1038/sj.leu.2402882.
 13. Hunter A. E., Rogers S.Y., Roberts I.A. et al. Autonomous growth of blast cells is associated with reduced survival in acute myeloblastic leukemia. *Blood*. 1993; 82(3): 899–903. DOI: 10.1182/blood.V82.3.899.bloodjournal823899.
 14. Witz F., Sadoun A., Perrin M.C. et al. A placebo-controlled study of recombinant human granulocyte–macrophage colony-stimulating factor administered during and after induction treatment for de novo acute myelogenous leukemia in elderly patients. *Groupe Ouest Est Leucemies Aigues Myeloblastiques (GOELAM)*. *Blood*. 1998; 91: 2722–30. DOI: 10.1182/blood.V91.8.2722.2722_2722_2730.
 15. Rowe J.M., Neuberg D., Friedenber W. et al. A phase 3 study of three induction regimens and of priming with GM-CSF in older adults with acute myeloid leukemia: a trial by the Eastern Cooperative Oncology Group. *Blood*. 2004; 103: 479–85. DOI: 10.1182/blood-2003-05-1686.
 16. Xavier L., Cunha M., Gonçalves C. et al. Hematological remission and long term hematological control of acute myeloblastic leukemia induced and maintained by granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) therapy. *Leuk Lymphoma*. 2003; 44(12): 2137–42. DOI: 10.1080/1042819031000111053.
 17. Delwel R., Salem M., Pellens C. et al. Growth regulation of human acute myeloid leukemia: effects of five recombinant hematopoietic factors in a serum-free culture system. *Blood*. 1988; 72(6): 1944–49.
 18. Blalock W. L., Weinstein-Oppenheimer C., Chang F. et al. Signal transduction, cell cycle regulatory, and anti-apoptotic pathways regulated by IL-3 in hematopoietic cells: possible sites for intervention with anti-neoplastic drugs. *Leukemia*. 1999; 13(8): 1109–66. DOI: 10.1038/sj.leu.2401493.
 19. Sung P.J., Sugita M., Koblisch H. et al. Hematopoietic cytokines mediate resistance to targeted therapy in FLT3-ITD acute myeloid leukemia. *Blood Adv*. 2019; 3(7): 1061–72. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018029850.
 20. Sato N., Caux C., Kitamura T. et al. Expression and factor-dependent modulation of the interleukin-3 receptor subunits on human hematopoietic cells. *Blood*. 1993; 82(3): 752–61. DOI: 10.1182/blood.V82.3.752.bloodjournal823752.
 - lymphoblastic leukemia. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2018; 90(7): 30–7 DOI: 10.26442/terarkh201890730-37. (In Russian).
 6. Topp M.S., Gökbuğet N., Stein A.S. et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2015; 16(1): 57–66. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)71170-2.
 7. Baskhaeva G.A., Parovichnikova E.N., Biderman B.V. et al. The role of IKZF1 deletions in adult Ph-negative and Ph-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia patients treated in Russian Acute Lymphoblastic Leukemia study. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2018; 63(1): 16–30. DOI: 10.25837/HAT.2018.80..1..002. (In Russian).
 8. Kopnin B.P. Modern concepts of the mechanisms of tumor growth: similarities and differences between solid tumors and leukemia. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika*. 2012; 5(3): 165–85. (In Russian).
 9. Drize N.I., Chertkov I.L. Cytokines and growth factors in the hematopoietic system. *Klinicheskaya onkogematologiya*. Volkova M.A., ed: 2nd edition, updated. Moscow: Meditsina Publishers; 2007: 81–8. (In Russian).
 10. Simbirteev A. S. Cytokines as a new system, regulating body defense reactions. *Tsitokiny i vospalenie*. 2002; 1(1): 9–16. (In Russian).
 11. Van der Lely N., De Witte T., Wessels J. et al. In vitro response of blasts to IL-3, GM-CSF, and G-CSF is different for individual AML patients: factors that stimulate leukemic clonogenic cells also enhance Ara-C cytotoxicity. *Ann Hematol*. 1994; 68(5): 225–32. DOI: 10.1007/bf01737421.
 12. Feuring-Buske M., Gerhard B., Cashman J. et al. Improved engraftment of human acute myeloid leukemia progenitor cells in beta 2-microglobulin-deficient NOD/SCID mice and in NOD/SCID mice transgenic for human growth factors. *Leukemia*. 2003; 17(4): 760–63. DOI: 10.1038/sj.leu.2402882.
 13. Hunter A. E., Rogers S.Y., Roberts I.A. et al. Autonomous growth of blast cells is associated with reduced survival in acute myeloblastic leukemia. *Blood*. 1993; 82(3): 899-903. DOI: 10.1182/blood.V82.3.899.bloodjournal823899.
 14. Witz F., Sadoun A., Perrin M.C. et al. A placebo-controlled study of recombinant human granulocyte–macrophage colony-stimulating factor administered during and after induction treatment for de novo acute myelogenous leukemia in elderly patients. *Groupe Ouest Est Leucemies Aigues Myeloblastiques (GOELAM)*. *Blood*. 1998; 91: 2722–30. DOI: 10.1182/blood.V91.8.2722.2722_2722_2730.
 15. Rowe J.M., Neuberg D., Friedenber W. et al. A phase 3 study of three induction regimens and of priming with GM-CSF in older adults with acute myeloid leukemia: a trial by the Eastern Cooperative Oncology Group. *Blood*. 2004; 103: 479–85. DOI: 10.1182/blood-2003-05-1686.
 16. Xavier L., Cunha M., Gonçalves C. et al. Hematological remission and long term hematological control of acute myeloblastic leukemia induced and maintained by granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) therapy. *Leuk Lymphoma*. 2003; 44(12): 2137–42. DOI: 10.1080/1042819031000111053.
 17. Delwel R., Salem M., Pellens C. et al. Growth regulation of human acute myeloid leukemia: effects of five recombinant hematopoietic factors in a serum-free culture system. *Blood*. 1988; 72(6): 1944–49.
 18. Blalock W. L., Weinstein-Oppenheimer C., Chang F. et al. Signal transduction, cell cycle regulatory, and anti-apoptotic pathways regulated by IL-3 in hematopoietic cells: possible sites for intervention with anti-neoplastic drugs. *Leukemia*. 1999; 13(8): 1109–66. DOI: 10.1038/sj.leu.2401493.
 19. Sung P.J., Sugita M., Koblisch H. et al. Hematopoietic cytokines mediate resistance to targeted therapy in FLT3-ITD acute myeloid leukemia. *Blood Adv*. 2019; 3(7): 1061–72. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018029850.
 20. Sato N., Caux C., Kitamura T. et al. Expression and factor-dependent modulation of the interleukin-3 receptor subunits on human hematopoietic cells. *Blood*. 1993; 82(3): 752–61. DOI: 10.1182/blood.V82.3.752.bloodjournal823752.

21. Militi S., Riccioni R., Parolini I. et al. Expression of interleukin 3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor common chain β_c , β_{IT} in normal haematopoiesis: lineage specificity and proliferation-independent induction. *Brit J Haematol.* 2000; 111(2): 441–51. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2000.02348.x.
22. Jordan C.T., Upchurch D., Szilvassy S.J. et al. The interleukin-3 receptor alpha chain is a unique marker for human acute myelogenous leukemia stem cells. *Leukemia.* 2000; 14(10): 1777–84. DOI: 10.1038/sj.leu.2401903.
23. Metcalf D. The molecular biology and functions of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Blood.* 1986; 67(2): 257–267. DOI: 10.1182/blood.V67.2.257.257.
24. Wielenga J.J., Vellenga E., Groenewegen A. et al. Recombinant human interleukin-3 (rh IL-3) in combination with remission induction chemotherapy in patients with relapsed acute myelogenous leukemia (AML): a phase I/II study. *Leukemia.* 1996; 10: 43–47.
25. Nimer S.D., Pacquette L., Ireland P. et al. A phase II study of interleukin-3 in patients with aplastic anemia and myelodysplasia. *Exp Hematol.* 1994; 22(9): 875–80.
26. Hurwitz N., Probst A., Zufferey G. et al. Fatal vascular leak syndrome with extensive hemorrhage, peripheral neuropathy and reactive erythrophagocytosis: an unusual complication of recombinant IL-3 therapy. *Leuk Lymphoma.* 1996; 20(3–4): 337–40. DOI: 10.3109/10428199609051628.
27. Reddy E.P., Korapati A., Chaturvedi P., Rane S. IL-3 signaling and the role of Src kinases, JAKs and STATs: a covert liaison unveiled. *Oncogene.* 2000; 19(21): 2532–47. DOI: 10.1038/sj.onc.1203594.
28. Wang J.M., Lai M.Z., Yang-Yen H.F. Interleukin-3 stimulation of mcl-1 gene transcription involves activation of the PU. 1 transcription factor through a p38 mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. *Mol Cell Biol.* 2003; 23(6): 1896–909. DOI: 10.1128/MCB.23.6.1896-1909.2003.
29. Jin L., Lee E.M., Ramshaw H.S. et al. Monoclonal antibody-mediated targeting of CD123, IL-3 receptor α chain, eliminates human acute myeloid leukemic stem cells. *Cell Stem Cell.* 2009; 5(1): 31–42. DOI: 10.1016/j.stem.2009.04.018.
30. Bras A.E., de Haas V., van Stigt A. et al. CD123 expression levels in 846 acute leukemia patients based on standardized immunophenotyping. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry.* 2019; 96(2): 134–42. DOI: 10.1002/cyto.b.21745.
31. Hassanein N.M., Alcantara F., Perkinson K.R. et al. Distinct expression patterns of CD123 and CD34 on normal bone marrow B-cell precursors (“hematogones”) and B lymphoblastic leukemia blasts. *Am J Clin Pathol.* 2009; 132(4): 573–80. DOI: 10.1309/AJCPO4DS0GTL5OEI.
32. Testa U., Riccioni R., Militi S. et al. Elevated expression of IL-3R α in acute myelogenous leukemia is associated with enhanced blast proliferation, increased cellularity, and poor prognosis. *Blood.* 2002; 100(8): 2980–88. DOI: 10.1182/blood-2002-03-0852.
33. Ehninger A., Kramer M., Röllig C. et al. Distribution and levels of cell surface expression of CD33 and CD123 in acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J.* 2014; 4(6): e218. DOI: 10.1038/bcj.2014.39.
34. Rollins-Raval M., Pillai R., Warita K. et al. CD123 immunohistochemical expression in acute myeloid leukemia is associated with underlying FLT3-ITD and NPM1 mutations. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2013; 21(3): 212–217. DOI: 10.1097/PAI.0b013e318261a342.
35. Wittwer N. L., Brumatti G., Marchant C. et al. High CD123 levels enhance proliferation in response to IL-3, but reduce chemotaxis by downregulating CXCR4 expression. *Blood Adv.* 2017; 1(15): 1067–79. DOI: 10.1182/bloodadvances.2016002931.
36. Clarkson B., Ohkita T., Ota K., Fried J. Studies of cellular proliferation in human leukemia. I. Estimation of growth rates of leukemic and normal hematopoietic cells in two adults with acute leukemia given single injections of tritiated thymidine. *J Clin Invest.* 1967; 46(4): 506–29. DOI: 10.1172/JCI105553.

37. Thomas D., Majeti R. Biology and relevance of human acute myeloid leukemia stem cells. *Blood*. 2017; 129(12): 1577–85. DOI: 10.1182/blood-2016-10-696054.
38. Bonnet D., Dick J.E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*. 1997; 3(7): 730–7. DOI: 10.1038/nm0797-730.
39. Al-Mawali A., Gillis D., Lewis I. Immunoprofiling of leukemic stem cells CD34+/CD38–/CD123+ delineate FLT3/ITD-positive clones. *J Hematol Oncol*. 2016; 9(1): 61. DOI: 10.1186/s13045-016-0292-z.
40. Vergez F., Green A.S., Tamburini J. et al. High levels of CD34+ CD38low/–CD123+ blasts are predictive of an adverse outcome in acute myeloid leukemia: a Groupe Ouest-Est des Leucemies Aigues et Maladies du Sang (GOELAMS) study. *Haematologica*. 2011; 96(12): 1792–8. DOI: 10.3324/haematol.2011.047894.
41. Angelova E., Audette C., Kovtun Y. et al. CD123 expression patterns and selective targeting with a CD123-targeted antibody-drug conjugate (IMGN632) in acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2019; 104(4): 749–55. DOI: 10.3324/haematol.2018.205252.
42. Chen Z., Sun Y., Xie W. et al. Is hyperdiploidy a favorable cytogenetics in adults with B-lymphoblastic leukemia? *Cancer medicine*. 2019; 8(9): 4093–4099. DOI: 10.1002/cam4.2255.
43. Du W., Li J., Liu W. et al. Interleukin-3 receptor α chain (CD123) is preferentially expressed in immature T-ALL and may not associate with outcomes of chemotherapy. *Tumor Biol*. 2016; 37(3): 3817–21. DOI: 10.1007/s13277-015-3272-y.
44. Pemmaraju N., Lane A.A., Sweet K.L. et al. Tagraxofusp in blastic plasmacytoid dendritic-cell neoplasm. *N Engl J Med*. 2019; 380(17): 1628–37. DOI: 10.1056/NEJMoa1815105.
45. Xiao W., Goldberg A.D., Famulare C. et al. Acute Myeloid Leukemia with Plasmacytoid Dendritic Cell Differentiation: Predominantly Secondary AML, Enriched for RUNX1 Mutations, Frequent Cross-Lineage Antigen Expression and Poor Prognosis. *Blood*. 2018; 132(Suppl. 1): 2789. DOI: 10.1182/blood-2018-99-119081.
46. He S.Z., Busfield S., Ritchie D.S. et al. A Phase 1 study of the safety, pharmacokinetics and anti-leukemic activity of the anti-CD123 monoclonal antibody CSL360 in relapsed, refractory or high-risk acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2015; 56(5): 1406–15. DOI: 10.3109/10428194.2014.956316.
47. Busfield S.J., Biondo M., Wong M. et al. Targeting of acute myeloid leukemia in vitro and in vivo with an anti-CD123 mAb engineered for optimal ADCC. *Leukemia*. 2014; 28(11): 2213–21. DOI: 10.1038/leu.2014.128.
48. Kubasch A.S., Schulze F., Götz K.S. et al. Anti-CD123 targeted therapy with Talacotuzumab in advanced MDS and AML after failing hypomethylating agents—final results of the Samba trial. *Blood*. 2018; 132(Suppl. 1): 4045. DOI: 10.1182/blood-2018-99-113112.
49. Hills R.K., Castaigne S., Appelbaum F.R. et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukaemia: a meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials. *Lancet Oncol*. 2014; 15(9): 986–96. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70281-5.
50. Daver N.G., Erba H.P., Papadantonakis N. et al. A phase I first-in-human study evaluating the safety and preliminary antileukemia activity of IMGN632, a novel CD123-targeting antibody-drug conjugate, in patients with relapsed/refractory acute myeloid leukemia and other CD123-positive hematologic malignancies. *Blood*. 2018; 132 (Suppl 1): 27. DOI: 10.1182/blood-2018-99-112955.
51. Frankel A.E., Woo J.H., Ahn C. et al. Activity of SL-401, a targeted therapy directed to interleukin-3 receptor, in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm patients. *Blood*. 2014; 124(3): 385–92. DOI: 10.1182/blood-2014-04-566737.
52. Frankel A., Liu J.S., Rizzieri D., Hogge D. Phase I clinical study of diphtheria toxin-interleukin 3 fusion protein in patients with acute myeloid leu-
37. Thomas D., Majeti R. Biology and relevance of human acute myeloid leukemia stem cells. *Blood*. 2017; 129(12): 1577–85. DOI: 10.1182/blood-2016-10-696054.
38. Bonnet D., Dick J.E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*. 1997; 3(7): 730–7. DOI: 10.1038/nm0797-730.
39. Al-Mawali A., Gillis D., Lewis I. Immunoprofiling of leukemic stem cells CD34+/CD38–/CD123+ delineate FLT3/ITD-positive clones. *J Hematol Oncol*. 2016; 9(1): 61. DOI: 10.1186/s13045-016-0292-z.
40. Vergez F., Green A.S., Tamburini J. et al. High levels of CD34+ CD38low/–CD123+ blasts are predictive of an adverse outcome in acute myeloid leukemia: a Groupe Ouest-Est des Leucemies Aigues et Maladies du Sang (GOELAMS) study. *Haematologica*. 2011; 96(12): 1792–8. DOI: 10.3324/haematol.2011.047894.
41. Angelova E., Audette C., Kovtun Y. et al. CD123 expression patterns and selective targeting with a CD123-targeted antibody-drug conjugate (IMGN632) in acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2019; 104(4): 749–55. DOI: 10.3324/haematol.2018.205252.
42. Chen Z., Sun Y., Xie W. et al. Is hyperdiploidy a favorable cytogenetics in adults with B-lymphoblastic leukemia? *Cancer medicine*. 2019; 8(9): 4093–99. DOI: 10.1002/cam4.2255.
43. Du W., Li J., Liu W. et al. Interleukin-3 receptor α chain (CD123) is preferentially expressed in immature T-ALL and may not associate with outcomes of chemotherapy. *Tumor Biol*. 2016; 37(3): 3817–21. DOI: 10.1007/s13277-015-3272-y.
44. Pemmaraju N., Lane A.A., Sweet K.L. et al. Tagraxofusp in blastic plasmacytoid dendritic-cell neoplasm. *N Engl J Med*. 2019; 380(17): 1628–37. DOI: 10.1056/NEJMoa1815105.
45. Xiao W., Goldberg A.D., Famulare C. et al. Acute Myeloid Leukemia with Plasmacytoid Dendritic Cell Differentiation: Predominantly Secondary AML, Enriched for RUNX1 Mutations, Frequent Cross-Lineage Antigen Expression and Poor Prognosis. *Blood*. 2018; 132(Suppl. 1): 2789. DOI: 10.1182/blood-2018-99-119081.
46. He S.Z., Busfield S., Ritchie D.S. et al. A Phase 1 study of the safety, pharmacokinetics and anti-leukemic activity of the anti-CD123 monoclonal antibody CSL360 in relapsed, refractory or high-risk acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2015; 56(5): 1406–15. DOI: 10.3109/10428194.2014.956316.
47. Busfield S.J., Biondo M., Wong M. et al. Targeting of acute myeloid leukemia in vitro and in vivo with an anti-CD123 mAb engineered for optimal ADCC. *Leukemia*. 2014; 28(11): 2213–21. DOI: 10.1038/leu.2014.128.
48. Kubasch A.S., Schulze F., Götz K.S. et al. Anti-CD123 targeted therapy with Talacotuzumab in advanced MDS and AML after failing hypomethylating agents—final results of the Samba trial. *Blood*. 2018; 132(Suppl. 1): 4045. DOI: 10.1182/blood-2018-99-113112.
49. Hills R.K., Castaigne S., Appelbaum F.R. et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukaemia: a meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials. *Lancet Oncol*. 2014; 15(9): 986–96. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70281-5.
50. Daver N.G., Erba H.P., Papadantonakis N. et al. A phase I first-in-human study evaluating the safety and preliminary antileukemia activity of IMGN632, a novel CD123-targeting antibody-drug conjugate, in patients with relapsed/refractory acute myeloid leukemia and other CD123-positive hematologic malignancies. *Blood*. 2018; 132 (Suppl 1): 27. DOI: 10.1182/blood-2018-99-112955.
51. Frankel A.E., Woo J.H., Ahn C. et al. Activity of SL-401, a targeted therapy directed to interleukin-3 receptor, in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm patients. *Blood*. 2014; 124(3): 385–92. DOI: 10.1182/blood-2014-04-566737.
52. Frankel A., Liu J.S., Rizzieri D., Hogge D. Phase I clinical study of diphtheria toxin-interleukin 3 fusion protein in patients with acute myeloid leu-

- kemia and myelodysplasia. *Leuk Lymphoma*. 2008; 49(3): 543–53. DOI: 10.1080/10428190701799035.
53. Stephansky J., Togami K., Ghandi M. et al. Resistance to SL-401 in AML and BPDCN is associated with loss of the diphthamide synthesis pathway enzyme DPH1 and is reversible by azacitidine. *Blood*. 2017; 130(Suppl. 1): 797. DOI: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.797.797
54. <https://clinicaltrials.gov/>.
55. Uy G.L., Rettig M.P., Vey N. et al. Phase 1 cohort expansion of flotetuzumab, a CD123× CD3 bispecific DART® protein in patients with relapsed/refractory acute myeloid leukemia (AML). *Blood*. 2018; 132(Suppl. 1): 764. DOI: 10.1182/blood-2018-99-117085.
56. Kügler M., Stein C., Kellner C. et al. A recombinant trispesific single-chain Fv derivative directed against CD123 and CD33 mediates effective elimination of acute myeloid leukaemia cells by dual targeting. *Br J Haematol*. 2010; 150(5): 574–86. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08300.x.
57. Бондаренко С.Н., Паровичникова Е.Н., Масчан А.А. и др. Блинатумомаб в терапии острого лимфобластного лейкоза: Российское многоцентровое исследование. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2019; 12(2): 45–53.
58. Ruella M., Barrett D.M., Kenderian S.S. et al. Dual CD19 and CD123 targeting prevents antigen-loss relapses after CD19-directed immunotherapies. *J Clin Invest*. 2016; 126(10): 3814–26. DOI: 10.1172/JCI87366.
59. Глуханюк Е.В., Степанов А.В., Попов А.М., Масчан М.А. Механизмы резистентности В-линейного острого лимфобластного лейкоза при применении CD19-направленной иммунотерапии. *Онкогематология*. 2018; 13(4): 27–36.
60. Arcangeli S., Rotiroti M.C., Bardelli M. et al. Balance of anti-CD123 chimeric antigen receptor binding affinity and density for the targeting of acute myeloid leukemia. *Mol Therapy*. 2017; 25(8): 1933–1945. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.04.017.

Информация об авторах

Бальжанова Янжима Базаровна*, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гематологических заболеваний с круглосуточным и дневным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: ybalzh11@gmail.com, тел.: 8 (915) 387-13-40
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8973-9407>

Савченко Валерий Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: director@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 07.03.2020

Принята к печати: 27.07.2020

- kemia and myelodysplasia. *Leuk Lymphoma*. 2008; 49(3): 543–53. DOI: 10.1080/10428190701799035.

53. Stephansky J., Togami K., Ghandi M. et al. Resistance to SL-401 in AML and BPDCN is associated with loss of the diphthamide synthesis pathway enzyme DPH1 and is reversible by azacitidine. *Blood*. 2017; 130(Suppl. 1): 797. DOI: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.797.797.

54. <https://clinicaltrials.gov/>.

55. Uy G.L., Rettig M.P., Vey N. et al. Phase 1 cohort expansion of flotetuzumab, a CD123× CD3 bispecific DART® protein in patients with relapsed/refractory acute myeloid leukemia (AML). *Blood*. 2018; 132(Suppl. 1): 764. DOI: 10.1182/blood-2018-99-117085.

56. Kügler M., Stein C., Kellner C. et al. A recombinant trispesific single-chain Fv derivative directed against CD123 and CD33 mediates effective elimination of acute myeloid leukaemia cells by dual targeting. *Br J Haematol*. 2010; 150(5): 574–86. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08300.x.

57. Bondarenko S.N., Parovichnikova E.N., Maschan A.A. et al. Blinatumomab in the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia: Russian Multicenter Clinical Trial. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika*. 2019; 12(2): 45–53. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-2-145-153. (In Russian).

58. Ruella M., Barrett D.M., Kenderian S.S. et al. Dual CD19 and CD123 targeting prevents antigen-loss relapses after CD19-directed immunotherapies. *J Clin Invest*. 2016; 126(10): 3814–26. DOI: 10.1172/JCI87366.

59. Glukhanyuk E.V., Stepanov A.V., Popov A.M., Maschan M.A. CD-19-directed immunotherapy resistance mechanisms of B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Onkogematologiya*. 2018; 13(4): 27–36. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-27-36. (In Russian).

60. Arcangeli S., Rotiroti M.C., Bardelli M. et al. Balance of anti-CD123 chimeric antigen receptor binding affinity and density for the targeting of acute myeloid leukemia. *Mol Therapy*. 2017; 25(8): 1933–45. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.04.017.

Information about the authors

Yanzhima B. Balzhanova*, hematologist in the Department of Intensive High-dose Chemotherapy of Hematological Diseases With Round-the-clock and Day Hospitals, National Research Center for Hematology,
e-mail: ybalzh11@gmail.com, tel.: 8 (915) 387-13-40
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8973-9407>

Valeriy G. Savchenko, Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Hematology Specialist of the Ministry of Health of the Russian Federation, RAS Academician, Head of the National Research Center for Hematology,
e-mail: director@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

* Corresponding author

Received 07 Mar 2020

Accepted 27 Jul 2020

КЛИНИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРИОСУПЕРНАТАНТНОЙ ПЛАЗМЫ

Галстян Г. М.^{1,*}, Гапонова Т. В.¹, Шерстнев Ф. С.², Купряшов А. А.³, Оловникова Н. И.¹, Зозуля Н. И.¹, Троицкая В. В.¹, Мазурок В. А.⁴, Певцов Д. Э.⁵, Салимов Э. Л.⁶, Трахтман П. Е.⁷, Савченко В. Г.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

²ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», 610027, Киров, Россия

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А. Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 121552, Москва, Россия

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197341, Санкт-Петербург, Россия

⁵ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197022, Санкт-Петербург, Россия

⁶ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный университет им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, Москва, Россия

⁷ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117198, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Криосупернатантная плазма (КСП) — это компонент донорской крови человека, приготовленный из плазмы путем удаления из нее криопреципитата.

Цель рекомендаций: предоставить сведения о производстве, составе, методах заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования КСП.

Основные сведения. В КСП по сравнению со свежезамороженной плазмой и криопреципитатом значительно снижены концентрации факторов VIII, XII, Виллебранда, фибриногена, в ней отсутствуют мультимеры фактора Виллебранда. Концентрации фактора V, антитромбина III, альбуминов и иммуноглобулинов, ADAMTS 13 такие же, как в свежезамороженной плазме. КСП может быть использована для восполнения острой массивной кровопотери у больных с наличием ингибитора фактора VIII, для проведения плазмообмена у больных тромботической тромбоцитопенической пурпурой. Доза КСП у детей должна быть 10–15 мл/кг массы тела ребенка.

Ключевые слова: криосупернатантная плазма, фибриноген, ингибитор фактора VIII, фактор свертывания VIII, фактор Виллебранда, ADAMTS 13, тромботическая тромбоцитопеническая пурпура

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Шерстнев Ф.С., Купряшов А.А., Оловникова Н.И., Зозуля Н.И., Троицкая В.В., Мазурок В.А., Певцов Д.Э., Салимов Э.Л., Трахтман П.Е., Савченко В.Г. Клиническое использование криосупернатантной плазмы. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(3): 351–359. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-351-359>

CLINICAL GUIDELINES FOR CRYOSUPERNATANT TRANSFUSIONS

Galstyan G. M.^{1,*}, Gaponova T. V.¹, Sherstnev F. S.², Kupryashov A. A.³, Olovnikova N. I.¹, Zozulya N. I.¹, Troitskaya V. V.¹, Mazurok V. A.⁴, Pevtsov D. E.⁵, Salimov E. L.⁶, Trakhtman P. E.⁷, Savchenko V. G.¹

¹National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

²Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, 610027, Kirov, Russian Federation

³A.N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery, 121552, Moscow, Russian Federation

⁴Almazov National Medical Research Centre, 197341, Saint Petersburg, Russian Federation

⁵I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 197022, Saint Petersburg, Russian Federation

⁶I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russia

⁷Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 117198, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Cryosupernatant is blood component. Cryosupernatant is the supernatant plasma removed during the preparation of cryoprecipitate.

Aim. To provide information on the composition and methods of production, storage, transportation and clinical use of Cryosupernatant.

General findings. In comparison with fresh frozen plasma (FFP) and cryoprecipitate, Cryosupernatant plasma is depleted in factor VIII, fibrinogen factor von Willebrand (VWF). Cryosupernatant is deficient in high molecular weight multimers of VWF, but contains VWF metalloproteinase. The concentrations of factor V, antithrombin III, albumin and immunoglobulins are the same as in FFP and cryoprecipitate. The indications for Cryosupernatant transfusions are massive blood loss in patients with factor VIII inhibitor, plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. For children the doses of Cryosupernatant should be 10-15 mL/kg.

Keywords: cryosupernatant, fibrinogen, factor VIII inhibitor, factor VIII, von Willebrand, ADAMTS 13, thrombotic thrombocytopenic purpura

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Galstyan G.M., Gaponova T.V., Sherstnev F.S., Kupryashov A.A., Olovnikova N.I., Zozulya N.I., Troitskaya V.V., Mazurok V.A., Pevtsov D.E., Salimov E.L., Trakhtman P.E., Savchenko V.G. Clinical guidelines for cryosupernatant transfusions. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2020; 65(3): 351–359 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-3-351-359>

Методология разработки клинических рекомендаций

Методы, использованные для сбора/отбора доказательств:

- поиск публикаций в специализированных периодических печатных изданиях с импакт-фактором более 0,3;
- поиск публикаций в электронных базах данных EMBASE, PUBMED и MEDLINE, публикаций, вошедших в Кокрановскую библиотеку, с использованием ключевых слов «криопреципитат», «КСП», «исследования», «рандомизированные», «рекомендации», а также на опыте участников.

Методы, использованные для анализа доказательств:

- обзоры опубликованных метаанализов;
- систематические обзоры с таблицами доказательств.

Методы, использованные для определения качества и силы доказательств:

- консенсус экспертов;
- оценка значимости доказательств в соответствии с рейтинговой схемой доказательств (табл. 1).

Общая характеристика криосупернатантной плазмы

Криосупернатантная плазма (КСП) — это компонент донорской крови человека крови, приготовленный из свежезамороженной плазмы (СЗП) удалением криопреципитата. В КСП по сравнению с СЗП и криопреципитатом значительно уменьшены концентрации фактора VIII (соответственно 0,20 против 1,14 и 12,7 ед/л), фибриногена (1,98 против 2,96 и 8,2 г/л), фактора Виллебранда (0,16 ед/л против 1,27 и 8,35 ед/л). По сравнению с СЗП в КСП снижена активность фактора XII (1,31 ед/л против 1,0 ед/л), отсутствуют мультимеры фактора Виллебранда, такие же концентрации фактора V (соответственно 0,99 и 0,97 ед/л) и антитромбина III (1,06 ед/л против 1,07 ед/л), альбуминов и иммуноглобулинов [1].

Концентрация ADAMTS 13 в КСП близка к таковой в СЗП, хотя и несколько снижена и может достигать 10–20% [1–3]. КСП не должна содержать клинически значимых нерегулярных антител [4, 5].

Методы получения

КСП получают после отделения криопреципитата из СЗП. Для этого контейнер с СЗП, соединенный с другим контейнером (контейнерами) и/или первичным гемоконтейнером для крови, длительно

Таблица 1. Классификация уровней доказательности и надежности рекомендаций
Table 1. Classification of the levels of the validity and reliability of recommendations

| Качество научных доказательств: градация по уровням Validity of scientific evidence: Levels | |
|--|---|
| Ia | Доказательства, полученные из систематических обзоров (метаанализов) рандомизированных контролируемых исследований Evidence obtained from systematic reviews (meta-analyses) of randomized controlled trials |
| Ib | Доказательства, полученные из рандомизированных контролируемых исследований Evidence obtained from randomized controlled trials |
| IIa | Доказательства, полученные из контролируемых исследований с хорошим дизайном без рандомизации Evidence obtained from well-designed controlled trials without randomization |
| IIb | Доказательства, полученные из полужекспериментальных исследований с хорошим дизайном (перспективные или ретроспективные когортные исследования «случай-контроль») Evidence obtained from well-designed semi-experimental studies (prospective or retrospective case-control cohort studies) |
| III | Доказательства, полученные из неэкспериментальных описательных исследований с хорошим дизайном (сравнительные исследования, корреляционные исследования, описания случаев) Evidence obtained from well-designed, non-experimental descriptive studies (comparative studies, correlation studies, case descriptions) |
| IV | Доказательства, полученные из сообщений экспертных комитетов или мнений и/или клинического опыта авторитетных специалистов Evidence obtained from expert committee reports or opinions and / or expert clinical experience |
| Степени надежности клинических рекомендаций: градация по категориям Reliability of clinical recommendations: Categories | |
| A | Рекомендации основываются на качественных и надежных научных доказательствах Recommendations based on high-quality and reliable scientific evidence |
| B | Рекомендации основываются на ограниченных или слабых научных доказательствах Recommendations based on limited or weak scientific evidence |
| C | Рекомендации основываются главным образом на согласованном мнении экспертов, клиническом опыте Recommendations based mainly on consensus expert opinion or clinical experience |

размораживают в течение 8–10 часов при температуре от +2 до +6 °С либо размораживают с использованием технологии быстрого оттаивания. После оттаивания систему контейнеров повторно центрифугируют с силой ускорения 3000 *g* при температуре от +2 до +6 °С в течение 10 минут (режим и время центрифугирования могут меняться в соответствии с инструкцией по эксплуатации центрифуги), надосадочную (криосупернатантную) плазму переводится в отдельный сателлитный контейнер и замораживают. В качестве исходного материала может быть использована плазма, полученная методом афереза. Конечный компонент получают тем же методом.

Маркировка

Этикетка на контейнере содержит:

- название компонента;
- характер компонента, например: из донации цельной крови или методом афереза;
- номер донации;
- номер донора;
- группа по системе АВ0;
- принадлежность по системе резус, указывая «Rh (D) — положительный», или «Rh (D) — отрицательный»;
- идентификация производителя (четкий текст или код);
- объем;
- была ли карантинизация или вирусная инактивация;
- Следующая дополнительная информация может быть размещена на контейнере или, как вариант, на коробке, в которую помещен контейнер:
 - дата изготовления;
 - температура хранения и срок годности;
 - инструкции по хранению, размораживанию и назначению, включая описание использования фильтров с размером пор не более 170–200 мкм.

Хранение и стабильность

Стабильность зависит от условий хранения, в том числе от температуры хранения. Оптимальная температура хранения –25 °С или менее. Разрешенный срок хранения — 24 месяца при температуре ниже –25 °С. После размораживания при хранении в асептических условиях при температуре от 1 до 6 °С активность ADAMTS 13 значительно не изменялась в течение первых 48 ч, но на 5-й день отмечалось ее уменьшение

на 2,6% по сравнению с исходной после размораживания, активность фактора свертывания VII уменьшалась на 10,2% в первые 24 ч, в течение последующих 4 суток она дополнительно уменьшалась только на 1,7%, активность фактора свертывания V уменьшалась на 3,1% в первые 24 ч и дополнительно — на 4,6% в течение последующих 4 дней, протромбиновое время увеличилось с 0,15 до 0,20 с за каждые сутки хранения, содержание мультимеров фактора Виллебранда было исходно очень низким и не повышалось в процессе хранения. Таким образом, хранение до 5 суток в холодильнике мало влияло на качество КСП [6].

Обеспечение качества

Одна доза КСП несет в себе такой же риск передачи вирусной инфекции, как и одна доза плазмы. Рассматриваются возможность применения патогенредуцированной КСП.

При изготовлении КСП из СЗП, обработанной амотасаленом и подвергнутой ультрафиолетовому облучению спектра А, в ней значимо не меняются такие параметры, как активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое время, тромбиновое время, концентрация фибриногена, активность факторов свертывания VII, X, протеина S, но значимо уменьшалось содержание альфа-2 антиплазмина, антитромбина III и протеина С, хотя эти изменения и находились в пределах референсных значений. Таким образом, КСП, произведенная из СЗП, подвергнутой редукции патогенов с помощью амотасалена и ультрафиолетового облучения спектром А, сохраняет свои свойства [7]. Имеются данные, что КСП, обработанная метиленовым синим, также сохраняет свою эффективность [8]. В то же время во многих странах патогенредуцированная КСП не производится и недоступна.

Помимо исследований, необходимых при контроле качества СЗП, к КСП предъявляются следующие требования (табл. 2).

Транспортировка

Температура хранения должна поддерживаться и во время транспортировки. Лечебное учреждение, получающее КСП, должно удостовериться, что контейнеры оставались замороженными в течение всего времени транспортировки. Если КСП не будет использована немедленно, необходимо сразу же поместить

Таблица 2. Контроль качества

Table 2. Quality control

| Параметр, который необходимо проверить <i>Controlled parameter</i> | Требования качества (спецификация) <i>Quality requirements (specification)</i> | Частота проведения контроля <i>Monitoring frequency</i> | Кем осуществляется контроль <i>Who provides control</i> |
|---|---|--|--|
| Объем <i>Volume</i> | Отклонение от исходного объема не более 10% <i>Deviation from initial volume not more than 10%</i> | Все единицы <i>All units</i> | Отдел переработки <i>Department of processing</i> |

контейнеры на хранение в условиях рекомендуемой температуры.

Переливание КСП

Размораживают КСП при помощи медицинского оборудования, предназначенного для подогревания компонентов крови при 30–37 °С. КСП может быть перелита через системы со стандартным фильтром для препаратов крови с размером пор не более 170–200 мкм. При переливании КСП выполняется биологическая проба — трансфузия первых 15 мл со скоростью 2 мл в минуту, без перерывов. КСП должна быть совместима по системе АВ0.

Меры предосторожности

КСП не следует применять пациентам с непереносимостью белков плазмы. Следует использовать плазму, совместимую по группе крови по системе АВ0. КСП следует использовать сразу же после размораживания из условий хранения и непосредственно перед использованием. Контейнер нельзя замораживать повторно. При повторном замораживании пластиковый контейнер может повредиться. До замораживания и после размораживания контейнер следует тщательно осмотреть на предмет протекания.

Побочные эффекты

- негемолитические трансфузионные реакции (главным образом озноб, лихорадка и крапивница);
- цитратная интоксикация (может развиваться при быстрой трансфузии больших объемов);
- передача вирусов (гепатит, ВИЧ и т.д.) возможна, несмотря на тщательность отбора доноров и проводимые исследования;
- сепсис как результат непреднамеренной бактериальной контаминации;
- связанное с трансфузией острое поражение легких;
- передача других патогенов, которые не исследуются или еще неизвестны.

Клиническое использование криосупернатантной плазмы в различных клинических ситуациях

Клиническое использование криосупернатантной плазмы при ингибиторной форме гемофилии А

У больных с наличием ингибитора фактора VIII при восполнении острой массивной кровопотери и/или синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания трансфузии СЗП могут способствовать увеличению выработки ингибитора фактора VIII. В этих условиях альтернативой может явиться переливание КСП, в которой уменьшено количество фактора VIII.

Клиническое использование криосупернатантной плазмы при тромботической тромбоцитопенической пурпуре

Теоретически КСП содержит меньше ультрабольших молекул фактора Виллебранда и поэтому может оказаться более эффективной, чем СЗП при лечении тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП). КСП одобрена Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными препаратами США (Food and Drug Administration) для лечения ТТП [3]. Однако данные о ее эффективности при лечении ТТП противоречивы. Сообщается об успешном применении глюкокортикостероидов и КСП у 3 детей, страдавших ТТП и системной красной волчанкой [9]. В ретроспективном исследовании показана большая выживаемость и более раннее восстановление количества тромбоцитов крови у больных ТТП, леченных КСП, по сравнению с лечеными СЗП, но при этом обращает на себя внимание очень низкая выживаемость в группе как леченных СЗП, равная 47%, так и леченных КСП (72%), что значительно ниже, чем по данным метаанализа (87%) [10]. По данным Канадской аферезной группы (Canadian Apheresis Group — CAG) [11], при лечении ТТП с помощью плазмообмена по сравнению с историческим контролем больные, которым замещение проводили КСП, по сравнению с больными, которым проводили замещение СЗП, быстрее достигали ответа по тромбоцитам (к 7-му дню доля ответивших была 75% в группе КСП против 45% в группе СЗП), у них была также выше месячная выживаемость (83–95% в группе КСП по сравнению с 76% в группе СЗП). Этот опыт послужил основанием для частого использования при проведении плазмообменов у больных ТТП в Канаде [12]. Однако имеются работы, в которых не выявлено преимуществ КСП по сравнению с СЗП при лечении ТТП. В проспективном исследовании [13] 40 больных ТТП для проведения плазмообмена получали СЗП и 12 — КСП: ответ на лечение был достигнут у 29 из 40 (72,5%) больных, получавших СЗП, и у 11 из 12 (91,6%) получавших КСП, чаще достигалась и ремиссия при использовании КСП по сравнению с СЗП (83% против 52,5%), но все эти различия оказались статистически незначимыми. В другом проспективном рандомизированном контролируемом исследовании сравнили КСП и СЗП для замещения при плазмообмене у больных ТТП и не нашли значимых различий в исходах: выживаемость составила соответственно 79 и 77%, однако в группе КСП отмечена тенденция к более медленному возникновению ответа на лечение и большей вероятности рецидива [14]. При сопоставлении эффективности комбинаций СЗП и КСП [15] во время проведения плазмообмена у 27 больных ТТП в одной группе (11 больных) использовали преимущественно КСП (соотношение КСП/СЗП >1), в другой группе преимущественно СЗП (соотношение КСП/СЗП <1). Количество

процедур плазмообмена и время до достижения полного ответа были меньше в группе преимущественного использования КСП, но не было различий в выживаемости между группами. В противоположность этим данным, в большом ретроспективном многоцентровом исследовании [16], в котором больные ТТП при проведении плазмообмена получали более 50% КСП, выживаемость составила 83% по сравнению с 91% у тех, кто получал только СЗП. Больным, получавшим более 50% объема КСП, потребовалось проведение в 1,5 раза больше процедур плазмообмена по сравнению с теми, кто лечился только СЗП.

В проспективном исследовании [17] 14 больных ТТП, которым проводилось лечение плазмообменами, были разделены на 2 группы: 5 больных получали КСП и 9 больных — СЗП. Отмечена большая потребность в сеансах плазмообмена и в большем объеме в группе КСП, чем СЗП, кроме того в группе КСП были чаще обострения (отношение шансов 26,6; 95% доверительный интервал 1,01–703,51; $p = 0,03$).

Таким образом, хотя крупные исследования и не проведены, имеющиеся данные не показали убедитель-

ных преимуществ КСП по сравнению с СЗП. Одним из возможных объяснений является тот факт, что какое-то количество ADAMTS 13 при изготовлении КСП из СЗП удаляется вместе с криопреципитатом. В результате активность ADAMTS 13 в КСП ниже, чем в СЗП, на 20% [3]. Этим можно объяснить более медленный ответ на лечение КСП, чем СЗП, а также примерно на 20% более низкую активность ADAMTS 13 после первой процедуры афереза, выполненной с КСП по сравнению с СЗП [18].

Рекомендации

- КСП может быть использована для восполнения острой массивной кровопотери у больных с наличием ингибитора фактора VIII (*уровень доказательности IV, степень надежности рекомендации C*).

- КСП может использоваться для проведения плазмообмена у больных ТТП (*уровень доказательности III, степень надежности рекомендации C*).

- Доза КСП у детей должна быть 10–15 мл/кг массы тела ребенка (*уровень доказательности III, степень надежности рекомендации C*).

Литература

1. Freedman M., Rock G. Analysis of the products of cryoprecipitation: RiCoF is deficient in cryosupernatant plasma. *Transfusion and Apheresis Science*. 2010; 43(2):179–82. DOI: 10.1016/j.transci.2010.07.004.
2. Hori Y., Hayakawa M., Isonishi A. et al. ADAMTS13 unbound to larger von Willebrand factor multimers in cryosupernatant: Implications for selection of plasma preparations for thrombotic thrombocytopenic purpura treatment. *Transfusion*. 2013; 53(12): 3192–202. DOI: 10.1111/trf.12182.
3. Raife T.J., Friedman K.D., Dwyre D.M. The pathogenicity of von Willebrand factor in thrombotic thrombocytopenic purpura: reconsideration of treatment with cryopoor plasma Thomas. *Transfusion*. 2006; 46: 74–9. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2006.00674.x.
4. РАТ. Донорская кровь и ее компоненты: характеристики и контроль качества. XIV. Криосупернатантная плазма. 2005.
5. Canadian Blood Service. Circular of information. For the use of human blood components. 2018.
6. Bhakta V., Jenkins C., Ramirez-Arcos S. et al. Stability of relevant plasma protein activities in cryosupernatant plasma units during refrigerated storage for up to 5 days postthaw. *Transfusion*. 2014; 54(2): 418–25. DOI: 10.1111/trf.12254.
7. Yarranton H., Lawrie A.S., MacKie I.J. et al. Coagulation factor levels in cryosupernatant prepared from plasma treated with amotosalen hydrochloride (S-59) and ultraviolet a light. *Transfusion*. 2005; 45(9):1453–8. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2005.00551.x.
8. O'Shaughnessy D., Atterbury C., Bolton Maggs P. et al. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *Br J Hematol*. 2004; 126(1): 11–28. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.04972.x.
9. Palaniappan P., Lionel A.P., Agarwal I. et al. Cryosupernatant and Immunosuppression as Effective Alternative Therapies for TTP in Three Pediatric SLE Patients. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2014; 30(Suppl 1): S232–6. DOI: 10.1007/s12288-014-0338-8.
10. von Baeyer H. Plasmapheresis in thrombotic microangiopathy-associated syndromes: review of outcome data derived from clinical trials and open studies. Vol. 6, *Ther apher*. 2002. p. 320–8. DOI: 10.1046/j.1526-0968.2002.00390.x.

References

1. Freedman M., Rock G. Analysis of the products of cryoprecipitation: RiCoF is deficient in cryosupernatant plasma. *Transfusion and Apheresis Science*. 2010; 43(2): 179–82. DOI: 10.1016/j.transci.2010.07.004.
2. Hori Y., Hayakawa M., Isonishi A. et al. ADAMTS13 unbound to larger von Willebrand factor multimers in cryosupernatant: Implications for selection of plasma preparations for thrombotic thrombocytopenic purpura treatment. *Transfusion*. 2013; 53(12): 3192–202. DOI: 10.1111/trf.12182.
3. Raife T.J., Friedman K.D., Dwyre D.M. The pathogenicity of von Willebrand factor in thrombotic thrombocytopenic purpura: reconsideration of treatment with cryopoor plasma Thomas. *Transfusion*. 2006; 46: 74–9. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2006.00674.x.
4. RAT. Donor blood and its components: characteristics and quality control. XIV. Cryosupernatant plasma. 2005 (In Russian).
5. Canadian Blood Service. Circular of information. For the use of human blood components. 2018.
6. Bhakta V., Jenkins C., Ramirez-Arcos S. et al. Stability of relevant plasma protein activities in cryosupernatant plasma units during refrigerated storage for up to 5 days postthaw. *Transfusion*. 2014; 54(2): 418–25. DOI: 10.1111/trf.12254.
7. Yarranton H., Lawrie A.S., MacKie I.J. et al. Coagulation factor levels in cryosupernatant prepared from plasma treated with amotosalen hydrochloride (S-59) and ultraviolet a light. *Transfusion*. 2005; 45(9): 1453–8. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2005.00551.x.
8. O'Shaughnessy D., Atterbury C., Bolton Maggs P. et al. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *Br J Hematol*. 2004; 126(1): 11–28. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.04972.x.
9. Palaniappan P., Lionel A.P., Agarwal I. et al. Cryosupernatant and Immunosuppression as Effective Alternative Therapies for TTP in Three Pediatric SLE Patients. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2014; 30(Suppl 1): S232–6. DOI: 10.1007/s12288-014-0338-8.
10. von Baeyer H. Plasmapheresis in thrombotic microangiopathy-associated syndromes: review of outcome data derived from clinical trials and open studies. Vol. 6, *Ther apher*. 2002. p. 320–8. DOI: 10.1046/j.1526-0968.2002.00390.x.

11. Rock G., Shumak K.H., Sutton D.M.C. et al. Cryosupernatant as replacement fluid for plasma exchange in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Brit J Haematol.* 1996; 94(2): 383–6. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1996.d01-1800.x.
12. Mazepa M.A., Raval J.S., Brecher M.E. et al. Treatment of acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura in the U.S. remains heterogeneous: Current and future points of clinical equipoise. *J Clin Apher.* 2018; 33(3): 291–6. DOI: 10.1002/jca.21600.
13. Altuntas F., Aydogdu I., Kabukcu S. et al. Therapeutic plasma exchange for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura: A retrospective multicenter study. *Transf Apher Sci.* 2007; 36(1): 57–67. DOI: 10.1016/j.transci.2006.05.014.
14. Zeigler Z.R., Shaddock R.K., Gryn J.F. et al. Cryoprecipitate poor plasma does not improve early response in primary adult thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). *J Clin Apher.* 2001; 16(1):19–22. DOI:10.1002/jca.1003.
15. Lin Q., Fan L., Huang H. et al. Combination of Fresh Frozen Plasma and Cryosupernatant Plasma for Therapeutic Plasma Exchange in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: A Single Institution Experience. *BioMed Res Int.* 2019; 2019. DOI: 10.1155/2019/1756109.
16. Moake J.L., Byrnes J.J., Troll J.H. et al. Effects of fresh-frozen plasma and its cryosupernatant fraction on von Willebrand factor multimeric forms in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 1985; 65(5): 1232–6.
17. Stefanello B., De Paula E.V., Orsi F.A. et al. Safety and efficacy of cryoprecipitate-poor plasma as a replacement fluid for therapeutic plasma exchange in thrombotic thrombocytopenic purpura: A single center retrospective evaluation. *J Clin Apher.* 2014; 29(6): 311–5. DOI: 10.1002/jca.21336.
18. Rock G., Ahluwalia N., Anderson D. Metalloprotease levels are variably altered in thrombotic thrombocytopenic patients at presentation and after plasma exchange with either cryosupernatant plasma or fresh frozen plasma. *Blood.* 2001; 102: 539a.

Информация об авторах

Галстян Геннадий Мартинович*, доктор медицинских наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: gengalst@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8818-8949>

Гапонова Татьяна Владимировна, кандидат медицинских наук, заместитель генерального директора по трансфузиологии, заведующий отделом трансфузиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; главный внештатный специалист-трансфузиолог Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: gaponova.tatj@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9684-5045>

Шерстнев Филипп Сергеевич, кандидат медицинских наук, заведующий отделением трансфузиологии и процессинга гемопоэтических стволовых клеток, ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», e-mail: sherstnyov_phil@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1751-8522>

Information about the authors

Gennadiy M. Galstyan*, Dr. Sci. (Med.), Anesthesiologist-Resuscitator, Head of the Department of Intensive care, National Research Center for Hematology, e-mail: gengalst@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8818-8949>

Tatiana V. Gaponova, Cand. Sci. (Med.), Deputy General Director for Transfusiology, Head of the Department of Blood cell Processing and Cryopreservation, National Research Center for Hematology; Chief External Specialist in Transfusiology, Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: gaponova.tatj@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9684-5045>

Filipp S. Sherstnev, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Transfusiology and Processing of Hematopoietic Stem Cells, Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, e-mail: sherstnyov_phil@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1751-8522>

Купряшов Алексей Анатольевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением переливания крови, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А. Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: kupriashov2007@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7673-4762>.

Оловникова Наталья Ивановна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория физиологии кроветворения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: olovnikova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0876-5414>

Зозуля Надежда Ивановна, доктор медицинских наук, заведующая отделением коагулопатий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: zozulya.n@blood.ru; тел.: +7 (916) 299-33-62
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7074-0926>

Троицкая Вера Витальевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения; заместитель генерального директора по лечебной работе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: v.troitskaya@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4827-8947>

Мазурок Вадим Альбертович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: vmazurok@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3917-0771>

Певцов Дмитрий Эдуардович, кандидат медицинских наук, руководитель отделения переливания крови ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dmitriipevtcov@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9240-2768>

Салимов Эмин Львович, доктор медицинских наук, заведующий отделом заготовки крови и ее компонентов, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный университет им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет),
e-mail: dc13@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3329-5434>

Alexey A. Kupryashov, Dr. Sci. (Med.), Head of Blood Transfusion Department, Bakoulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery,
e-mail: kupriashov2007@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7673-4762>

Natalia I. Olovnikova, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory for Blood Formation Physiology, National Research Center for Hematology,
e-mail: olovnikova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0876-5414>

Nadezhda I. Zozulya, Dr. Sci. (Med.), Hematologist, Head of the Scientific and Consulting Department of Coagulopathies, National Research Center for Hematology,
e-mail: zozulya.n@blood.ru; tel.: +7 (916) 299-33-62
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7074-0926>

Vera V. Troitskaya, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy for Hemoblastosis and Hematopoietic Depressions; Deputy General Director for Medical Work of the National Research Center for Hematology,
e-mail: v.troitskaya@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4827-8947>

Vadim A. Mazurok, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Anaesthesiology and Reanimatology, Almazov National Medical Research Centre,
e-mail: vmazurok@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3917-0771>

Dmitrii E. Pevtcov, Cand. Sci. (Med.), Head of the Blood Transfusion Department, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University,
e-mail: dmitriipevtcov@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9240-2768>

Emin L. Salimov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Blood and Its Component Production, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University,
e-mail: dc13@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3329-5434>

Трахтман Павел Евгеньевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением трансфузиологии, заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

e-mail: trakhtman@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0231-1617>

Савченко Валерий Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

e-mail: svg@blood.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 17.12.2019

Принята к печати: 25.12.2019

Pavel E. Trakhtman, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Blood Transfusion, Production and Processing of Hematopoietic Stem Cells, Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,

e-mail: trakhtman@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0231-1617>

Valeriy G. Savchenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the RAS, Head of the National Research Center for Hematology,

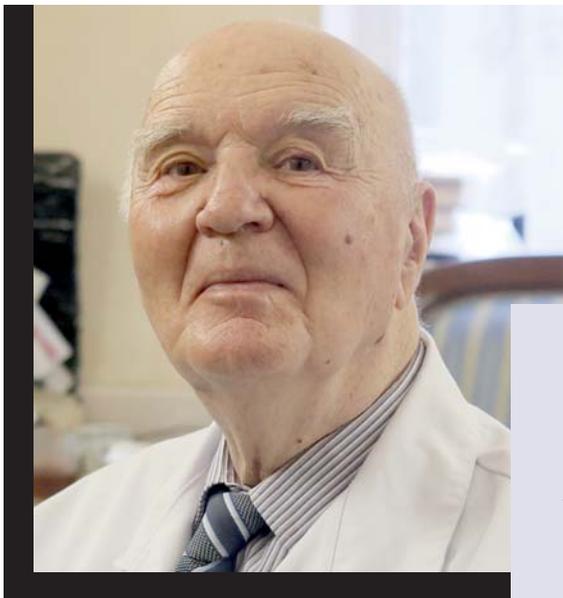
e-mail: svg@blood.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

*** Corresponding author**

Received 17 Dec 2019

Accepted 25 Dec 2019



Некролог

**ПАМЯТИ АКАДЕМИКА
АНДРЕЯ ИВАНОВИЧА ВОРОБЬЕВА
(01.11.1928–15.06.2020)**

Ушел из жизни Андрей Иванович Воробьев, ушел не просто человек, ученый, гематолог. Андрей Иванович — это эпоха в отечественной медицине. Когда уходит эпоха, трудно подводить ее итоги в некрологе, трудно передать ощущение потери. Он навсегда останется для нас в одном ряду с такими именами, как философ, революционер, соратник В. И. Ленина, создатель первого в мире Института переливания крови (ныне — Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) гематологии) Александр Александрович Богданов; основоположник отечественной гематологии, автор унитарной теории кроветворения Александр Николаевич Крюков; великолепный клиницист Иосиф Абрамович Кассирский.

Андрей Иванович родился 1 ноября 1928 г. в Москве. Его путь к вершине отечественной науки был непрост. Сын репрессированных, «врагов народа», он попал в детский дом, откуда его спасли родственники. С 1943 по 1944 г. работал маляром, в 1947 г. окончил школу с золотой медалью, с 1947 по 1953 г. учился в 1-м Московском медицинском институте, с 1953 по 1956 г. работал в Волоколамской районной больнице участковым терапевтом, патологоанатомом, заведовал поликлиникой, отвечал за районную педиатрию и детскую комнату родильного дома. В 1956 г. поступил в клиническую ординатуру к профессору Иосифу Абрамовичу Кассирскому на кафедру гематологии Центрального института усовершенствования врачей. В 1966–1974 гг. руководил клиническим отделом Института биофизики МЗ СССР. В 1968 г. защитил докторскую диссертацию «Опухолевая прогрессия и некоторые вопросы патогенеза лейкозов». В 1971 г. Андрей Иванович был избран заведующим кафедрой гематологии и трансфузиологии Центрального института усовершенствования врачей.

В 1986 г. Андрей Иванович — инициатор создания и член правительственной медицинской комиссии по аварии на Чернобыльской атомной электростанции. В 1986 г. избран членом Академии медицинских наук СССР. С 1987 по 2011 г. — директор Гематологического научного центра АМН (в настоящее время — ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России).

С 1987 по 2018 г. А. И. Воробьев являлся главным редактором нашего журнала.

В 1990–1991 гг. — народный депутат СССР. С 1991 по 1992 г. — министр здравоохранения Российской Федерации. Будучи первым министром здравоохранения Российской Федерации, Андрей Иванович Воробьев приложил максимум усилий для сохранения и развития здравоохранения после развала СССР. На этом посту он боролся за сохранение лучших черт отечественной системы здравоохранения. Ему принадлежит инициатива Указа Президента (сентябрь 1992 г.) о финансировании дорогостоящих видов лечения, который спас медицину от деградации и до сего дня поддерживает существование бесплатных

для населения высококвалифицированных медицинских услуг. В 2000 г. был избран академиком РАН по Отделению биологических наук.

Школа Андрея Ивановича Воробьева — это десятки настоящих ученых, учеников, это сотни новых открытий и многие тысячи спасенных жизней. Научный коллектив под руководством Андрея Ивановича внес принципиальный вклад в развитие современной гематологии как в клиническом плане, так и в фундаментальном и экспериментальном отношениях.

В 1964 г. А. И. Воробьев выдвинул оригинальную теорию опухолевой прогрессии лейкозов, которая опирается на явление повышенной мутабельности опухолевых клеток, появление субклонов в ранее моноклональной опухоли, что позволило А. И. Воробьеву предложить в 1973 г. принципиально новую схему кроветворения и наметить в ней клеточные уровни возникновения опухолей.

Изучая кинетику распада эритроцитов, А. И. Воробьев открыл наличие «резервной» популяции эритроцитов, увеличивающейся в ответ на резкое возрастание потребности организма в кислороде. Это открытие легло в основу методов диагностики гемолитических анемий.

Вместе с Т. В. Шишковой А. И. Воробьев описал дисгормональную кардиопатию — особую форму поражения сердца, расценивавшуюся ранее как инфаркт миокарда.

В 1972 г. Андрей Иванович Воробьев первым в нашей стране применил «тотальную программную химиотерапию» и впервые вылечил детей от острого лимфобластного лейкоза, создал программу профилактики нейрорлейкемии с помощью интратекального введения цитостатических препаратов.

Одним из направлений работы школы А. И. Воробьева явилось изучение радиационной патологии. Им было дано классическое описание патогенеза лучевой болезни, создана единственная в мире комплексная система биологической дозиметрии. Это привело к разработке теоретических основ патогенетической интенсивной терапии в лучевой патологии, гематологии. Незаменимость такой терапии в условиях массовых радиационных поражений была подтверждена при ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС в 1986 г. Применение ее в условиях массового радиационного поражения позволило провести точную диагностику и сортировку пострадавших, обеспечив тем самым раннюю и адекватную терапию. Работы по изучению последствий чернобыльской катастрофы доказали пороговость онкогенного воздействия радиации малой мощности.

В работах А. И. Воробьева и его школы разработана уточненная классификация опухолей лимфатической системы, учитывающая их органоспецифичность, морфологию и чувствительность к цитостатическим препаратам. Основанные на ней программы терапии позволили достигнуть выдающихся успехов в лечении ряда лимфатических опухолей.

Под руководством Андрея Ивановича сотрудники ГНЦ РАМН принимали участие в оказании помощи пострадавшим практически во всех техногенных и природных катастрофах последних десятилетий (армянское землетрясение 1988 г., сахалинское землетрясение 1994 г., чернобыльская авария, взрывы на железной дороге, захват заложников в Беслане). А. И. Воробьев разработал современные методы лечения синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания и краш-синдрома, сформулировал принципы оказания медицинской помощи в условиях катастроф.

Работа Андрея Ивановича неразрывно связана с преподаванием не только гематологии, но и кардиологии, трансфузиологии, морфологии, дифференциальной диагностики и интенсивной терапии критических состояний. Его блестящие лекции по проблеме внутренней медицины, утренние конференции, на которых, отталкиваясь от конкретных клинических ситуаций, обсуждались самые острые вопросы диагностики и лечения, широко известны не только в Москве, но и далеко за ее пределами.

А. И. Воробьев был награжден орденами Ленина, «За заслуги перед Отечеством» III степени, являлся лауреатом Государственной премии СССР, заслуженным деятелем науки Российской Федерации.

Всегда, везде и во всем. Он старался успеть сделать все. И сделал много, очень много, больше, чем многие успевают сделать за одну человеческую жизнь. Нам будет трудно без Андрея Ивановича Воробьева.

ВЗРОСЛЫЕ ПОМОГАЮТ ВЗРОСЛЫМ



Отправь sms
на номер **3434**
с текстом
«СПАСТИ» [сумма]

leikozu.net

Свидетельство Минюст РФ о гос. регистрации
в реестре НКО № 7714014600 от 23.06.2014 г.

БЛАГОТВОРИТЕЛЬНЫЙ ФОНД «ФОНД БОРЬБЫ С ЛЕЙКЕМИЕЙ»
ПОМОГАЕТ ВЗРОСЛЫМ (ОТ 18 ЛЕТ) С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КРОВИ

ISSN 0234-5730



9 770234 573007