

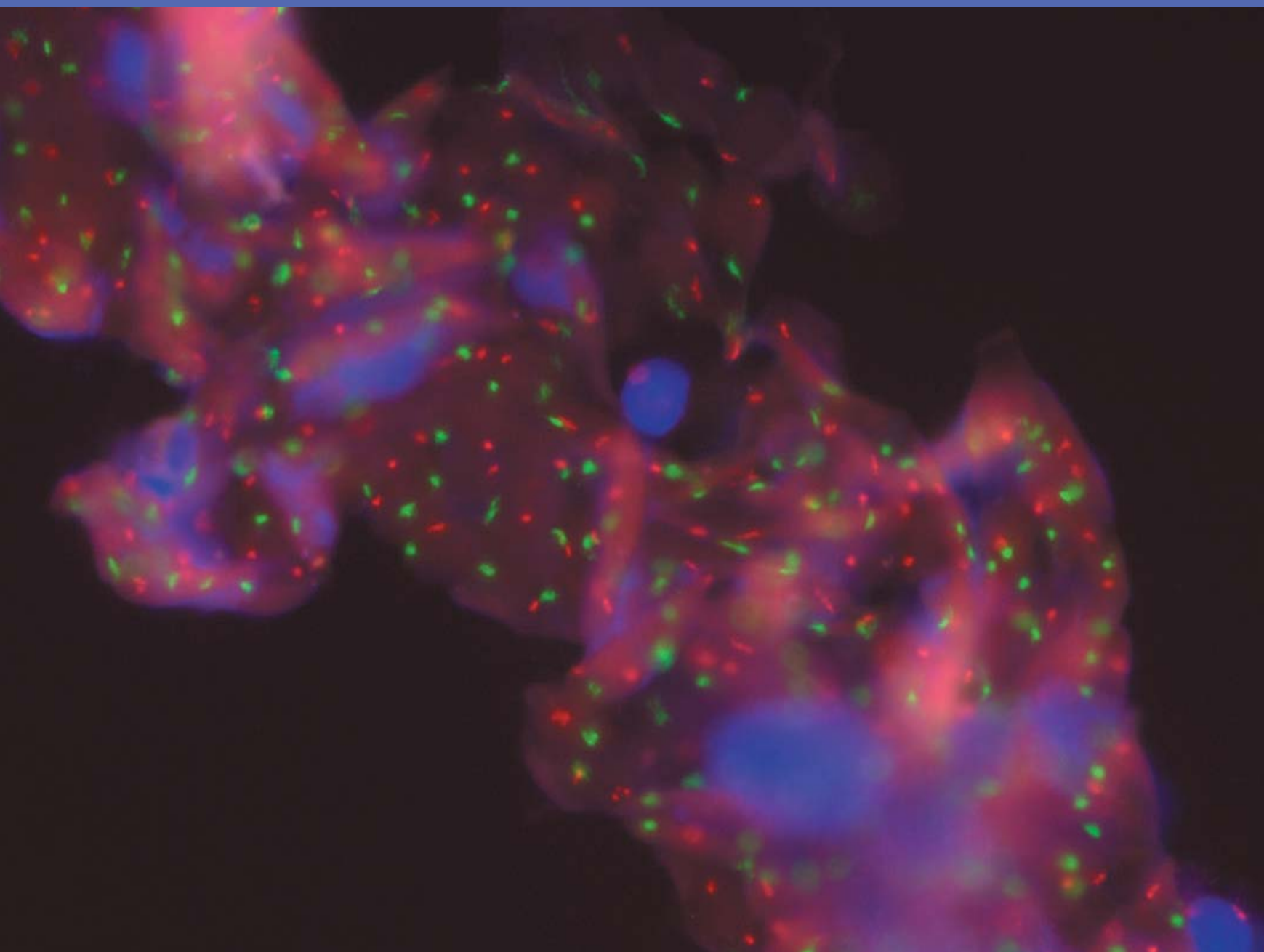
ISSN (Print) 0234-5730
ISSN (Online) 2411-3042

ФГБУ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ГЕМАТОЛОГИИ
МИНЗДРАВА РОССИИ
НАЦИОНАЛЬНОЕ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

64.2. 2019

RUSSIAN JOURNAL
OF HEMATOLOGY AND
TRANSFUSIOLOGY
(GEMATOLOGIYA | TRANSFUSIOLOGIYA)





В ИССЛЕДОВАНИИ ПРЕПАРАТ ТАСИГНА® ПРОДЕМОНСТРИРОВАЛ

БОЛЕЕ РАННИЙ ОТВЕТ, БОЛЕЕ ГЛУБОКИЙ ОТВЕТ, МЕНЬШЕ СЛУЧАЕВ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ*

по сравнению с иматинибом¹⁻⁵

Терапия препаратом Тасигна® позволяет пациентам с Ph+ ХМЛ достигать более раннего и более глубокого ответа по сравнению с иматинибом, что способствует значительному увеличению выживаемости без прогрессирования¹⁻⁵

*до фазы акселерации/бластного криза (ФА/БК) Ph+ ХМЛ (хронический миелоидный лейкоз, положительный по филадельфийской хромосоме).

1. Kantarjian at al. Lancet Oncol 2011, Sep;12(9): pp.841-851
2. Larson at al. Leukemia 2012; 26: pp.2197-2203
3. Larson at al. J Clin Oncol 31, 2013; suppl; abstr 7052^
4. Saglio G, et al. Blood 2013; 92: 122 (21)
5. Larson RA, et al. Blood 2014; 4541: 124 (21)
6. Baccarani M, et al. Blood 2013; vol.12; num.6: pp.872-884
7. Timothy P. Hughes, et al. Blood 2014; 123: pp.1353-1360



**ОТВЕТ имеет
ЗНАЧЕНИЕ^{6,7}**



Полную информацию о препарате можно
получить в ООО "Новartis Фарма":
Москва, ул. Ленинградский проспект, дом 72, корпус 3.
Тел. +7(495) 967 1270. Факс +7(495) 967 1268
www.novartis.ru

© Novartis 2018

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

1030522/TAS/ALL/10.18/0

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

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 медицинских наук
и ученой степени доктора медицинских 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 Чоренький С. И.

Дизайн Чулкова И. Г.

Формат 230x297 мм
Тираж 1500 экз.

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.ppressa-rf.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)
2019. Т. 64. №2, 99–238

© 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, миелопоза, 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 гемопоэтических 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., заведующая отделением интенсивной высокотехнологичной 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

Афанасьев Борис Владимирович, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, директор НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

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

Хамаганова 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-Лондон, 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)

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 Zhykovskiy 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 Zhykovskiy proezd, 4
National Research Center for Hematology, Moscow

Phone: +7(495) 921-22-04
E-mail: hi@hijournal.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

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

NEICON ISP Ltd, Letnikovskaya str., 4,
bldg 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)
2019. Vol. 64. No. 2, 99–238

© 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 specialties.

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, immunohematology; 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.), 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

Boris V. Afanasyev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Honoured Doctor of the Russian Federation, Head of the Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Head of the Chair of Hematology, Transfusiology and Transplantation, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

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. Kryzhanovsky, 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, Piragov 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. Julhakyan, Cand. Sci. (Med.), Scientific Secretary, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Mikhail Yu. Drovov, 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).

Emin 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. Tsaar, 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

106–121

Туркина А. Г., Лазарева О. В., Челышева Е. Ю., Шухов О. А., Куликовский А. А., Галайко М. В., Сендерова О. М., Пепеляева В. М., Мересий С. В., Лучинин А. С., Милютин Г. И., Гаврилова Л. В., Авдеева Л. Б., Дашеева Е. Б., Виноградова О. Ю., Куликов С. М.

Результаты терапии больных хроническим миелолейкозом по данным Российской части международного многоцентрового популяционного исследования EUTOS population-based Study (EUTOS-PBS)

123–137

Пшеничникова О. С., Гончарова М. В., Пустовойт Я. С., Карпова И. В., Суринов В. Л.

Пилотное исследование генетической предрасположенности к клиническому проявлению острой перемежающейся порфирии

138–149

Гаврилина О. А., Паровичникова Е. Н., Троицкая В. В., Басхаева Г. А., Лукьянова И. А., Зарубина К. И., Савченко В. Г.

Применение позитронно-эмиссионной томографии / компьютерной томографии для оценки ответа на химиотерапию у больных острыми лимфобластными лейкозами

150–164

Габеева Н. Г., Королева Д. А., Смольянинова А. К., Беляева А. В., Татарникова С. А., Гемджян Э. Г., Цыганкова С. В., Булыгина Е. С., Расторгуев С. М., Недолужко А. В., Нарайкин О. С., Бидерман Б. В., Судариков А. Б., Обухова Т. Н., Ковригина А. М., Звонков Е. Е.

Химиотерапия по программе R-mNHL-BFM-90 в комбинации с леналидомидом как терапия первой линии у больных MUM1-позитивной диффузной В-крупноклеточной лимфомой и фолликулярной лимфомой 3В цитологического типа

165–174

Сафуанова Г. Ш., Рябчикова Н. Р., Хуснутдинова Э. К., Каримов Д. О., Миннихметов И. Р.

Прогностическое значение полиморфных вариантов генов CYP3A5 и hOCT1 у больных хроническим миелолейкозом в Республике Башкортостан

Обзоры литературы

175–187

Хамаганова Е. Г., Кузьмина Л. А.

Оценка HLA-совместимости и требования к HLA-типированию больного и донора при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

188–197

Грибкова И. В., Олейник Ю. А., Шалаев С. А., Давыдовская М. В., Кокушкин К. А.

Комбинированная терапия при миелофиброзе

CONTENTS

Original Articles

Turkina A. G., Lazareva O. V., Chelysheva E. Yu., Shukhov O. A., Kulikovskiy A. A., Galayko M. V., Senderova O. M., Pepelyaeva V. M., Meresiy S. V., Luchinin A. S., Milyutina G. I., Gavrilova L. V., Avdeeva L. B., Dasheeva D. B., Vinogradova O. Yu., Kulikov S. M.

Treatment outcomes in patients with chronic myeloid leukemia according to the Russian part of the EUTOS population-based study

Pshenichnikova O. S., Goncharova M. V., Pustovoit Y. S., Karpova I. V., Surin V. L.

Pilot research of a genetic predisposition for clinical manifestations of acute intermittent porphyria

Gavrilina O. A., Troitskaya V. V., Baskhaeva G. A., Lukyanova I. A., Zarubina K. I., Parovichnikova E. N.

Application of positron emission tomography/computer tomography for evaluating the response to chemotherapy in patients with acute lymphoblastic leukemia/lymphoblastic lymphoma

Gabeeva N. G., Koroleva D. A., Smolyaninova A. K., Belyaeva A. V., Tatarnikova C. A., Gemdzhian E. G., Tsygankova S. V., Bulygina E. S., Rastorguev S. M., Nedoluzhko A. V., Naraikin O. C., Biderman B. V., Sudarikov A. B., Obukhova T. N., Kovrigina A. M., Zvonkov E. E.

Chemotherapy according to the R-mNHL-BFM-90 protocol in combination with lenalidomide as the first line therapy in patients with MUM1-positive diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma of grade 3B

Safuanova G. Sh., Ryabchikova N. R., Khusnutdinova E. K., Karimov D. O., Minniakhmetov I. R.

Prognostic value of CYP3A5 and hOCT1 polymorphic gene variants in patients with chronic myeloid leukemia in the Republic of Bashkortostan

Review Articles

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

Gribkova I. V., Oleinik Yu. A., Shalaev S. A., Davydovskaya M. V., Kokushkin K. A.

Combination therapy for myelofibrosis

- 198–210 Хаспекова С. Г., Шустова О. Н., Головкина Л. Л., Мазуров А. В.
Диагностические маркеры и предикторы неонатальной иммунной тромбоцитопении
- 211–221 Андрюков Б. Г., Богданова В. Д., Ляпун И. Н.
Фенотипическая гетерогенность нейтрофилов: новые диагностические характеристики и диагностические технологии
- Обмен опытом*
- 222–233 И. А. Пашкова
Алгоритмы разрешения проблем предтрансфузионного иммуногематологического тестирования
- Клинические наблюдения*
- 234–237 Рустамов М. Н., Гусейнов Г. Р., Ахмедов И. С.
Приапизм как первый признак хронического миелолейкоза
- Khaspekova S. G., Shustova O. N., Golovkina L. L., Mazurov A. V.
Diagnostic markers and predictors of neonatal immune thrombocytopenia
- Andryukov B. G., Bogdanova V. D., Lyapun I. N.
Phenotypic heterogeneity of neutrophils: new antimicrobial characteristics and diagnostic technologies
- Exchange of experience*
- Pashkova I. A.
Algorithms for solving problems of pre-transfusion immunohematological testing
- Case reports*
- Rustamov M. N., Huseynov G. R., Akhmedov I. S.
Priapism as the first sign of chronic myeloid leukemia

РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ ПО ДАННЫМ РОССИЙСКОЙ ЧАСТИ МЕЖДУНАРОДНОГО МНОГОЦЕНТРОВОГО ПОПУЛЯЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ EUTOS POPULATION-BASED STUDY (EUTOS-PBS)

Туркина А. Г.¹, Лазарева О. В.^{1*}, Чельшева Е. Ю.¹, Шухов О. А.¹, Куликовский А. А.¹, Галайко М. В.², Сендерова О. М.³, Пепеляева В. М.⁴, Мересий С. В.⁵, Лучинин А. С.⁶, Милютина Г. И.⁷, Гаврилова Л. В.⁸, Авдеева Л. Б.⁹, Дашеева Д. Б.¹⁰, Виноградова О. Ю.^{11, 12}, Куликов С. М.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

² ЦКБ им. Н. А. Семашко ОАО «РЖД», 129128, Москва, Россия

³ ГБУЗ Иркутская ордена «Знак Почета» областная клиническая больница, 664003, Иркутск, Россия

⁴ ГБУЗ Пермского края «Ордена «Знак Почета» Пермская краевая клиническая больница, 614990, Пермь, Россия

⁵ ГБУЗ Пермского края «Клиническая медико-санитарная часть № 1», Пермь, Россия

⁶ ФБГУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» Федерального медико-биологического агентства, 610027, Киров, Россия

⁷ ГАУЗ «Брянская областная больница № 1», Брянск, Россия

⁸ ГБУЗ Республики Мордовия «Республиканская клиническая больница № 4» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 430032, Саранск, Россия

⁹ ГУЗ «Краевая клиническая больница» Забайкальского края, Чита, Россия

¹⁰ ГУЗ «Забайкальский краевой онкологический диспансер», 672012, Чита, Россия

¹¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С. П. Боткина» Департамента здравоохранения города Москвы, 125284, Москва, Россия

¹² ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Европейский популяционный регистр (EUTOS for CML Registry) включает данные взрослых больных ($n = 2904$) Ph-позитивным (Ph+) и/или BCR-ABL1-позитивным (BCR-ABL1+) хроническим миелолейкозом (ХМЛ), диагностированным с 2008 г. по декабрь 2012 г. в 20 странах Европы. Россия приняла участие в этом исследовании, включив 6,8 % больных ХМЛ от общего числа больных в регистре.

Цель: оценка долгосрочных результатов лечения популяции больных впервые выявленным ХМЛ в Российской Федерации и сопоставление с данными, полученными на общеевропейской популяционной когорте больных.

Больные и методы. Анализируемая когорта состояла из 197 больных из 6 регионов России с диагнозом Ph+/BCR-ABL1+ ХМЛ, установленным в период с 01.10.2009 по 31.12.2012. Медиана возраста составляла 50 (18–82) лет, соотношение мужчин и женщин — примерно в равных пропорциях.

Результаты. В первой линии лечение иматинибом получали 97 % больных и 3 % больных — ингибиторам тирозинкиназ 2-го поколения. Динамика достижения ответов: через 12 месяцев полный цитогенетический ответ и большой молекулярный ответ были достигнуты у 40 и 20 % больных. Общая выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессии у больных в России к 12, 24 и 30 месяцам составляла 93, 87 и 84 и 92, 87 и 87 % соответственно. В России исследование было пролонгировано. К 80 мес. наблюдения ОВ больных в хронической фазе ХМЛ с низким и высоким риском прогрессии заболевания составила 88 и 56 % соответственно. В фазе акселерации 5-летняя общая выживаемость — 39 %.

Заключение. Анализ результатов терапии у больных ХМЛ на популяционной неселектированной выборке свидетельствует об увеличении выживаемости больных ХМЛ. Однако выявлены проблемы терапии и отмечена необходимость интенсификации лечения у больных с неблагоприятным прогнозом течения ХМЛ.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, популяционное исследование, популяция, выживаемость общая, выживаемость без прогрессирования, ингибиторы тирозинкиназы

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Благодарности. Коллектив авторов выражает глубокую признательность всем сотрудникам лабораторий, стационаров и поликлинических отделений центров, участвовавших в данном исследовании, из Иркутской области, г. Перми и Пермского края, Кировской области, Брянской области, Республики Мордовия и Забайкальского края; сотрудникам ФГБУ «НМИЦ гематология» МЗ РФ, в том числе Тищенко Ирине Анатольевне за помощь в подготовке публикации.

Для цитирования: Туркина А.Г., Лазарева О.В., Челышева Е.Ю., Шухов О.А., Куликовский А.А., Галайко М.В., Сендерова О.М., Пепеляева В.М., Мересий С.В., Лучинин А.С., Милютин Г.И., Гаврилова Л.В., Авдеева Л.Б., Дашеева Д.Б., Виноградова О.Ю., Куликов С.М. Результаты терапии больных хроническим миелолейкозом по данным российской части международного многоцентрового популяционного исследования EUTOS population-based Study (EUTOS-PBS). Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2):106–121. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-106-121>

TREATMENT OUTCOMES IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA ACCORDING TO THE RUSSIAN PART OF THE *EUTOS* POPULATION-BASED STUDY

Turkina A.G.¹, Lazareva O.V.¹, Chelysheva E.Yu.¹, Shukhov O.A.¹, Kulikovskiy A.A.¹, Galayko M.V.², Senderova O.M.³, Pepelyaeva V.M.⁴, Meresiy S.V.⁵, Luchinin A.S.⁶, Milyutina G.I.⁷, Gavrilova L.V.⁸, Avdeeva L.B.⁹, Dasheeva D.B.¹⁰, Vinogradova O.Yu.^{11, 12}, Kulikov S.M.¹

¹ National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

² N.A. Semashko Central Clinical Hospital No. 2, JSC "Russian Railways"

³ Irkutsk Regional Clinical Hospital, 664003, Irkutsk, Russian Federation

⁴ Perm Regional Clinical Hospital, 614990, Perm, Russian Federation

⁵ Clinical Medical Unit No. 1 of Perm Krai, Perm, Russian Federation

⁶ Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, 610027, Kirov, Russian Federation

⁷ Bryansk Regional Hospital NO.1, Bryansk, Russian Federation

⁸ Mordovia Republican Clinical Hospital No. 4, 430032, Saransk, Russian Federation

⁹ Trans-Baikal Regional Clinical Hospital, Chita, Russian Federation

¹⁰ Trans-Baikal Regional Oncology Centre, 672012, Chita, Russian Federation

¹¹ S.P. Botkin City Clinical Hospital, 125284, Moscow, Russian Federation

¹² Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 117997, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Background. The European Population Register *EUTOS* for CML includes data on adult patients ($n = 2904$) diagnosed with Ph-positive (Ph+) and/or BCR-ABL1-positive (BCR-ABL1+) chronic myeloid leukemia (CML) in 20 European countries during the period from 2008 to December 2012. Russia took part in this study, having contributed 6.8 % of CML patients to the total number of patients in the Register.

Aim. To estimate long-term treatment outcomes in patients with newly diagnosed CML in the Russian Federation in comparison with the data obtained for a pan-European population cohort of patients.

Patients and methods. The cohort under study consisted of 197 patients from 6 Russia regions, all of whom were diagnosed with a Ph+ / BCR-ABL1 + CML during the period from October, 1, 2009 to December, 31, 2012. The patients' median age was 50 (18–82) years, with men and women being represented in approximately equal proportions.

Results. In the first line, 97 % and 3 % of the patients received *Imatinib* and 2nd generation tyrosine kinase (TKI) inhibitors, respectively. The response dynamics was as follows: 12 months after the treatment, a complete cytogenetic response and a major molecular response were achieved in 40 % and 20 % of the patients. The overall survival (OS) and progression-free survival rates in patients in Russia following 12, 24 and 30 months were 93 %, 87 % and 84 %, and 92 %, 87 % and 87 %, respectively.

respectively. In Russia, the study was prolonged. By 80 months of observation, the OS of patients in the chronic CML phase with a low and high risk of the disease progression had been 88 % and 56 %, respectively. In the acceleration phase, the 5-year overall survival rate was 39 %.

Conclusion. An analysis of treatment outcomes in CML patients in a population-based non-selected sample indicates an increase in the survival of CML patients. However, problematic aspects of the therapy have been identified, along with a need for intensification of the treatment in patients with an unfavourable CML prognosis.

Keywords: chronic myeloid leukemia, population study, population, overall survival, progression-free survival, tyrosine kinase inhibitors

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

Acknowledgments. We express our appreciation to the employees of all the laboratories, hospitals and outpatient departments from the Irkutsk, Kirov and Bryansk Oblasts, Perm and the Perm Krai, the Republic of Mordovia and the Trans-Baikal Krai for participating in the study. We extend our gratitude to employees of the Scientific Research Centre for Hematology and Irina A. Tishchenko for their invaluable assistance in preparing the manuscript for publication.

For citation: Turkina A.G., Lazareva O.V., Chelysheva E.Yu., Shukhov O.A., Kulikovskiy A.A., Galayko M.V., Senderova O.M., Pepelyaeva V.M., Meresiy S.V., Luchinin A.S., Milyutina G.I., Gavrilova L.V., Avdeeva L.B., Dasheeva D.B., Vinogradova O.Yu., Kulikov S.M. Treatment outcomes in patients with chronic myeloid leukemia according to the Russian part of the EUTOS population-based study. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(2):106–121 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-106-121>

Введение

Благодаря изучению молекулярных основ хронического миелолейкоза (ХМЛ) разработаны эффективные лекарственные препараты-ингибиторы тирозинкиназы (ИТК), способные блокировать активность аномального BCR-ABL1 онкобелка, играющего ключевую роль в развитии и прогрессии заболевания [1, 2]. Терапия ИТК радикально изменила прогноз заболевания. Применение ИТК дало возможность быстрого снижения объема опухолевой массы, получения не только клинико-гематологической ремиссии заболевания, но и восстановления нормального кроветворения, что отразилось в получении полного цитогенетического ответа (ПЦО) и большого молекулярного ответа (БМО), при которых вероятность прогрессии заболевания минимальна.

Получение оптимального ответа при следовании современным рекомендациям [3] позволяет добиться увеличения выживаемости больных ХМЛ до общепопуляционной [4]. Оценка эффективности применения имеющегося в настоящее время арсенала терапии, включающего несколько поколений препаратов ИТК, является актуальной и важной задачей.

Нормированная на стандартную популяцию ВОЗ заболеваемость ХМЛ в РФ составила 0,70 на 100 000 населения в год, на стандартную популяцию Европы — 0,72 [5]. Учитывая, что ХМЛ является редким заболеванием, для оценки эффективности терапии ИТК в реальной клинической практике целесообразно проведение популяционных проспективных исследований.

В 2007 г. в рамках проекта European Treatment and Outcome Study in CML patients (EUTOS) европейской международной организации European Leukemia Net (ELN) было инициировано международное многоцентровое проспективное наблюдательное исследование Population Based Study (PBS) с участием 20 европейских стран, включая Российскую Федерацию. Ис-

следование EUTOS PBS было одобрено комитетами по этике и другими компетентными органами во всех участвующих странах в соответствии с национальным законодательством.

Согласно протоколу исследования, выполнялась регистрация всех случаев впервые выявленного ХМЛ у взрослых больных. Регистрация больных началась в период с 2008 по 2010 г. (из-за различных нормативных требований в участвующих странах) и была прекращена в декабре 2012 г. В странах с населением менее 10 млн жителей регистрация осуществлялась на всей территории страны; в странах с населением более 10 млн регистрация проводилась в заранее выбранных отдельных регионах с общей численностью населения около 10 млн жителей. Всего охват населения в исследовании EUTOS PBS составил 92 526 127 человек. Сбор данных о терапии и мониторинге ответа на лечение проводился до декабря 2014 г.

В России для участия в исследовании EUTOS PBS были выбраны следующие регионы: Санкт-Петербург, Ленинградская область, Мордовия, Киров, Пермь, Брянск, Иркутск, Чита. Общая численность населения в российской части исследования составила 13 097 675 человек.

Эпидемиологические данные и клинико-демографические характеристики больных на момент диагностики заболевания для европейской и российской частей исследования уже опубликованы [6–10]. Эти данные позволили составить объективную картину о заболеваемости ХМЛ и клинической картине ХМЛ в РФ и Европе в условиях применения современных методов диагностики заболевания (цитогенетического, молекулярно-генетического).

Одними из ключевых задач исследования EUTOS PBS были характеристика спектра применяемых для терапии

ХМЛ ИТК в реальной клинической практике и анализ результатов терапии, включая оценку общей выживаемости, а также достижение цитогенетического и молекулярного ответа. Результаты европейского исследования по этим задачам также были недавно опубликованы [11].

В данной публикации представлена характеристика терапии ХМЛ и ее результаты в современных условиях на основании российской части проспективного исследования EUTOS PBS, собранных центром-координатором ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, г. Москва: 7 гематологических клиник из 6 регионов РФ: Республика Мордовия, Кировская область, Пермская область (2 клиники), Брянская область, Иркутская область, Забайкальский край (г. Чита). Общая численность населения в указанных регионах составляла 10 125 200 человек.

Особенностью сбора информации для российской когорты больных с указанным выше центром-координатором было продление периода наблюдения с целью мониторинга отдаленных событий и сбор данных после завершения европейского исследования. Российская исследовательская группа ХМЛ при поддержке Национального гематологического общества продолжила проведение исследования до октября 2017 г.

Цель — оценка долгосрочных результатов лечения, проводимого в российской популяции больных с впервые выявленным ХМЛ, и сопоставление с данными, полученными на общеевропейской популяционной когорте больных.

Задачи исследования: 1) представить характеристику больных ХМЛ в России в соответствии с фазой заболевания и прогностической группой риска; 2) охарактеризовать терапию, проводимую больным ХМЛ в рамках практического здравоохранения; 3) оценить общую выживаемость и выживаемость без прогрессии; 4) оценить вероятность достижения полного цитогенетического ответа (ПЦО) и большого молекулярного ответа (БМО); 5) сопоставить данные, полученные в российской части исследования, с соответствующими результатами европейского исследования.

Больные и методы исследования

Рекомендации международной организации ELN по диагностике и терапии ХМЛ были известны и приняты во внимание во всех странах, принимавших участие в исследовании EUTOS PBS; однако исследование не предусматривало какой-либо единой схемы ведения больных и было наблюдательным.

В соответствии с планом исследования были собраны и документированы клиничко-гематологические данные больных ХМЛ на момент установления диагноза, до начала какого-либо лечения, даты проведения терапии (дата начала и окончания лечения), препараты, использованные для первой линии лечения, даты и показания для перехода на вторую линию терапии, даты прогрессии и смерти. Результаты цитогенетиче-

ского и/или молекулярно-генетического исследований после начала терапии собирались, по крайней мере, 1 раз в год у всех больных.

В российской части исследования к 2015 году данные были внесены для всех больных; однако к 2017 году в силу организационных проблем сбор данных был затруднен, в связи с чем сведения о результатах терапии на более поздних сроках наблюдения были собраны менее полно.

Все больные, включая российских, подписали информированное согласие, которое было одобрено локальным Этическим комитетом от 06.04.2009 (протокол № 63).

Критерии включения больных в российской части исследования EUTOS PBS:

- диагноз Ph⁺/BCR-ABL⁺ ХМЛ установлен с 1.10.2009 по 31.12.2012;
- верификация диагноза цитогенетическим и/или молекулярно-генетическим методом;
- все фазы ХМЛ;
- возраст больных старше 18 лет.

Определения и конечные точки

Определение фазы ХМЛ проводилось по критериям ELN [3]: хроническая фаза (ХФ), фаза акселерации (ФА) и бластный криз (БК). Группы риска у больных с ХФ ХМЛ были рассчитаны в соответствии с прогностическими шкалами Sokal [12], EUTOS [13] и ELTS (EUTOS long term survival score) [14].

Для определения цитогенетического ответа использовали результаты цитогенетических исследований, в которых проведен анализ, по крайней мере, 20 метафаз.

Для определения молекулярного ответа использовали результаты молекулярно-генетического исследования методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (RQ-ПЦР) со стандартизацией результатов в соответствии с международной шкалой IS (international scale).

Традиционно дату ПЦО и БМО определяли как дату первого исследования, где достигался соответствующий порог в исследовании (отсутствие Ph⁺ клеток и BCR-ABL ≤ 0,1 % IS соответственно).

Мониторинг цитогенетического и молекулярного ответа в российской части исследования был относительно нерегулярным. Для получения более точных оценок в анализе вместо индивидуальных дат ПЦО и БМО использовались интервалы дат: самая поздняя дата, до которой целевое событие не могло произойти (левая граница интервала) и самая ранняя дата, про которую можно утверждать, что событие уже произошло (правая граница интервала).

Левую границу для даты ПЦО устанавливали как максимальную из дат: дата цитогенетического исследования с количеством Ph⁺ клеток > 0 % или дата молекулярного теста с уровнем белка BCR-ABL > 10 %.

Правую границу для даты ПЦО устанавливали как минимальную из дат: дата цитогенетического обследования с отсутствием Ph⁺ клеток или дата молекулярного теста с уровнем BCR-ABL $\leq 1\%$.

Левую границу для даты БМО устанавливали как максимальную из дат: дата цитогенетического обследования с количеством Ph⁺ клеток >0 или дата молекулярного теста с уровнем BCR-ABL $>0,1\%$. Правую границу для даты ПЦО устанавливали как дату первого молекулярного теста с уровнем BCR-ABL $\leq 0,1\%$.

При проведении событийного анализа для всех событий, включая достижение ПЦО, БМО, прогрессирование и смерть от любых причин, длительность времени до события рассчитывалась от даты начала терапии. Под прогрессированием понимали смену фазы заболевания на ФА или БК. Смерти были классифицированы на две группы, а именно 1) «смерть в ремиссии», в случае если цитогенетическим и/или молекулярным исследованием был подтвержден ПЦО и/или БМО в последние 6 месяцев до смерти, 2) «связанная с лейкемией» во всех других случаях. Смерть определялась как связанная с лейкемией, в случае если наступала после прогрессирования до ФА или БК либо при отсутствии гематологического ответа у больных в ХФ. Кроме того, смерти больных без ПЦО и без потери гематологического ответа также расценивали как «связанные с лейкемией». Смерти в ремиссии рассматривались как не связанные с ХМЛ или как связанные с другими причинами.

Статистический анализ. Для характеристики выборки больных использовали методы описательной статистики и частотного анализа, для анализа результатов терапии использовались классические методы событийного анализа.

Для оценки вероятности цитогенетических и молекулярных ответов использовались процедуры, применяющие данные с двусторонним (интервальным) цензурированием. Все расчеты проводились с использованием программы процедур пакета SAS Version 9.4. Результаты европейского исследования EUTOS PBS для сопоставления с данными российской части исследования представлены на основе опубликованных данных [11]. Учитывая отсутствие доступа к первичным данным всех больных общеевропейской когорты, российские больные не были исключены из результатов и оценок европейского исследования. По этой причине результаты сопоставления в российской и европейской когорте больных представлены без формального статистического тестирования различий.

Результаты

Клинико-демографическая характеристика больных, включенных в исследование

За период около 5 лет (с января 2008 по декабрь 2012 г.) в европейское исследование EUTOS PBS

были включены 2904 больных впервые выявленным ХМЛ [11]. За период проведения исследования в РФ, который составил около 3 лет (с 1 октября 2009 до 31 декабря 2012 года), было зарегистрировано 338 случаев ХМЛ.

Центром-координатором ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (г. Москва) за указанный период зарегистрировано 199 больных с подтвержденным диагнозом Ph⁺/BCR-ABL1+ ХМЛ. Число зарегистрированных больных по регионам составило 16 (8,1 %), 17 (8,6 %), 28 (14 %), 58 (29,4 %), 25 (12 %), 55 (27,9 %) для Мордовии, Забайкальского края, Кировской, Пермской, Брянской и Иркутской областей соответственно. Двое из 199 больных на момент диагностики заболевания были младше 18 лет. Таким образом, критериям включения в исследование соответствовали 197 больных (далее — *русская группа больных, русская когорта, русская часть исследования*).

Соотношение мужчины/женщины составило 100 (50,7 %) / 97 (49,3 %). Медиана (Me) возраста составила 50 (от 18 до 82) лет; Me возраста для мужчин была 44 (от 18 до 82) года, для женщин — 53 (21–82) года. Диагноз ХМЛ был подтвержден у всех 197 больных: цитогенетическим и молекулярно-генетическим методом — у 183 (92 %), только цитогенетическим методом — у 15 (7,5 %), только молекулярно-генетическим методом у 1 (0,5 %) больного. ХФ и ФА заболевания на момент диагноза были установлены у 184 (93,4 %) и 12 (6 %) больных соответственно. У 1 (0,5 %) больного в дебюте заболевания установлен БК, миелоидный вариант [10].

В таблице 1 представлено сопоставление клинико-демографических данных российских больных (EUTOS PBS РФ) с данными общей европейской группы (EUTOS PBS Европа) [11].

Расчет группы риска в соответствии с разными прогностическими моделями (шкалами оценки) осуществлялся только у тех больных с ХФ ХМЛ, которые в дальнейшем получали лечение ИТК. Группу риска в российской когорте возможно было рассчитать у 184 больных по прогностической шкале Sokal и EUTOS и у 179 больных по прогностической шкале ELTS.

Распределение больных по группам риска было следующим. Прогностическая модель Sokal ($n = 184$): 56 (30,7 %) / 74 (40 %) / 54 (29,3 %) для групп низкого, промежуточного и высокого риска соответственно. Прогностическая модель EUTOS ($n = 184$): 154 (83,6 %) и 30 (16,4 %) для групп низкого и высокого риска. Прогностическая модель ELTS ($n = 179$): 86 (48 %), 50 (28 %) и 43 (24 %) для групп с низким, промежуточным и высоким риском соответственно. Распределение больных в соответствии с разными прогностическими шкалами для российской и европейской группы представлено в таблице 2.

Таблица 1. Клинико-демографические характеристики больных ХМЛ на момент установления диагноза в российской и европейской части исследования EUTOS PBS

Table 1. Clinical and demographic baseline characteristics of patients with chronic myeloid leukemia at the time of diagnosis in the Russian and European parts of the EUTOS PBS study

Параметры Characteristics	EUTOS PBS РФ (6 регионов РФ) EUTOS PBS Russia (6 RF regions)	EUTOS PBS Европа (20 стран) EUTOS PBS Europe (20 countries)
Число больных, n Number of patients	197	2826*
Соотношение мужчины/женщины Male / Female Ratio	50,7/49,3 %	53/47 %
Возраст Ме (мин-макс), лет Median age, (min-max), years	50 (18–82)	55 (18–99)
Возраст мужчин, Ме (мин-макс), лет Age of men, Me (min-max), years	44 (18–82)	57
Возраст женщин, Ме (мин-макс), лет Age of women, Me (min-max), years	53 (21–82)	55
Фазы: ХФ; ФА; БК Phases: CP; AP; BC	93,4 %; 6 %; 0,6 %	94,3 %; 4,1 %; 2,2 %

Примечание. * — у 78 из 2 904 (2,7 %) больных фаза ХМЛ была неизвестна.

Note. * in 78 of 2,904 (2.7 %) patients, the CML phase was unknown.

Таблица 2. Распределение больных по группам риска в ХФ ХМЛ на момент диагноза по данным российской и европейской части исследования EUTOS PBS

Table 2. Distribution of patients by risk groups in the chronic phase (CP) of chronic myeloid leukemia at the time of diagnosis according to the Russian and European parts of the EUTOS PBS study

Группы риска в зависимости от прогностической шкалы Risk groups in accordance with the prognostic score	PBS РФ (6 регионов РФ) больные в ХФ n = 184 EUTOS PBS Russia (6 RF regions) patients in CP n = 184	PBS Европа (20 стран Европы) больные в ХФ n = 2342 EUTOS PBS Europe (20 countries) patients in CP n = 2342
Sokal	n = 184	n = 2270
Низкий риск, % Low risk, %	30,7	34,5
Промежуточный риск, % Intermediate risk, %	40	40,8
Высокий риск, % High risk, %	29,3	24,7
EUTOS	n = 184	n = 2277
Низкий риск, % High risk, %	83,6	88,4
Высокий риск, % High risk, %	16,4	11,6
ELTS	n = 179	n = 2196
Низкий риск, % Low risk, %	48	54
Промежуточный риск, % Intermediate risk, %	28	31
Высокий риск, % High risk, %	24	16

Примечание. Ме наблюдения за больными в российской группе на момент выполнения анализа составила 69 (0,7–95) мес.

Note. At the time of the analysis, Me of patient observation in the Russian group was 69 (0.7–95) months.

Терапия больных ХМЛ

Первая линия терапии ИТК

Период от установления диагноза ХМЛ до начала терапии ИТК среди российских больных составил 0,65 мес. (от 0,2 до 6,75 мес.). На время обследования и подтверждения диагноза до начала терапии ИТК 99 (50 %) больным была назначена гидроксимочевина (hydroxyurea — НУ), 2 (1 %) — интерферон (ИФН), у 88 (46 %) больных была сразу начата терапия ИТК.

У 193 больных (98 %) проводилась терапия ИТК. У 4 (2 %) больных проводилась терапия НУ без последующего назначения ИТК.

У 187 (97 %) больных в первой линии лечения проводилась терапия ИТК первого поколения иматинибом (ИМ), у 6 (3 %) больных — ИТК второго поколения (ИТК2) нилотинибом. ИМ применяли в дозах 400 мг/сутки у 174 (93 %) больных в ХФ ХМЛ; в дозах 600 и 800 мг/сутки у 11 (6 %) и 2 (1 %) в продвинутых фазах ХМЛ (ФА и БК). Нилотиниб был назначен в первой линии в дозе 600 мг/сутки (300 мг дважды в сутки) у 6 больных в ХФ ХМЛ.

Вторая линия терапии ИТК

Смена препарата была произведена у 22 (12 %) из 193 больных, получавших ИТК: у 19 больных, получавших ИМ в первой линии лечения, и у 3 больных, получавших нилотиниб в первой линии. У 18 (9 %) смена ИТК проводилась в связи с неэффективностью; у 4 (3 %) — при сочетании непереносимости с невозможностью достичь оптимального ответа. У 15 из 22 больных во второй линии терапии был назначен нилотиниб, у 4 — дазатиниб, у 3 — ИМ после терапии нилотинибом.

В связи с неудачей терапии первых двух линий ИТК третью линию ИТК с предыдущей сменой препарата (нилотиниб, дазатиниб) получали 4 больных.

В российской когорте в клинических исследованиях принимали участие 6 (3 %) больных.

Причины смерти больных

За указанное время наблюдения (к октябрю 2017 г.) в российской части исследования живы 141 (71,5 %) больной, умерло 47 (24 %) больных, жизненный статус 9 (4,5 %) больных неизвестен.

Двадцать (43 %) из 47 умерших больных умерли при прогрессировании ХМЛ до ФА и БК, 22 (46 %) больных были с признаками лейкемии, но без прогрессии до ФА/БК, в 5 (11 %) случаях была смерть в ремиссии (больные с ПЦО и/или БМО за последние 6 месяцев до смерти).

К 5 годам терапии ИТК летальность от основного заболевания составила $10,00 \pm 2,19\%$; от сопутствующих заболеваний — $9,90 \pm 2,17\%$; суммарная летальность — $19,90 \pm 2,90\%$ (рис. 1).

Наибольшее число случаев смерти отмечено в первый год после установления диагноза ХМЛ: 17 (36 %) из 47 случаев. У 12 из 17 больных причиной смерти на первом году наблюдения была прогрессия ХМЛ. Двое из указанных 12 больных с прогрессией заболевания умерли, отказавшись от терапии ИТК. У 5 из 17 больных в качестве причины смерти были вынесены в основной диагноз сопутствующие заболевания, однако в большинстве случаев их можно рассматривать как конкурирующие с основным заболеванием.

На 7 году терапии ИТК отмечен 1 случай смерти после трансплантации аллогенного костного мозга.

Таблица 3. Сравнительная характеристика терапии больных ХМЛ в российской и европейской частях исследования EUTOS PBS

Table 3. Comparative characteristics of treatment of patients with chronic myeloid leukemia in the Russian and European parts of the EUTOS PBS study

Терапия Therapy	EUTOS PBS РФ (6 регионов), n = 197 EUTOS PBS Russia (6 regions of the RF), n = 197	EUTOS PBS Европа (20 стран), n = 2212 EUTOS PBS Europe (20 countries), n = 2212
Гидроксимочевина Hydroxyurea	2 %	3 %
1-я линия терапии ИТК 1 st line of TKI	98 %	97 %
Иматиниб Imatinib	97 %	80 %
Нилотиниб Nilotinib	3 %	13 %
Дазатиниб Dasatinib	—	4 %
2-я линия терапии ИТК 2 nd line of TKI	n = 22 (12 %)	n = 584 (26 %)
Иматиниб (после ИТК2 в первой линии) Imatinib (after TKI-2 in the 1 st line therapy)	14 %	8 %
Нилотиниб Nilotinib	68 %	57 %
Дазатиниб Dasatinib	18 %	35 %

Таблица 4. Причины смерти больных ХМЛ в исследовании EUTOS PBS**Table 4.** Causes of death among patients with chronic myeloid leukemia in the EUTOS PBS study

Причины смерти больных Causes of death among the patients	EUTOS PBS РФ, n = 47 EUTOS PBS Russia, n = 47	EUTOS PBS Европа, n = 187 EUTOS PBS Europe, n = 187
Прогрессирование ХМЛ до ФА и БК Progression of CML to AP and BC	43 %	34 %
Смерть с признаками лейкоза, но без прогрессии Death with signs of leukemia, but without progression	46 %	46 %
Смерть в ремиссии Death in remission	11 %	20 %

Сопоставление причин смерти в российской и европейской когортах исследования EUTOS PBS представлено в таблице 4.

Общая выживаемость

В российской части исследования ОВ к 12, 24 и 30 мес. терапии составила 93 % (95 % доверительный интервал (ДИ) 88–97 %), 87 % (95 % ДИ 80–90 %), 84 % (95 % ДИ 79–90 %) соответственно. По результатам оценки ОВ российской когорты на поздних сроках терапии, ОВ больных ХМЛ к 60, 84 и 95 мес. (7 лет) составила 80 % (95 % ДИ 72–86 %), 78 % (95 % ДИ 65–80 %) и 73 % (95 % ДИ 65–80 %) соответственно (рис. 2).

ОВ российской когорты больных, получавших терапию ИТК, в зависимости от фазы ХМЛ представлена на рисунке 3.

В настоящее время используются различные прогностические модели, но наиболее значимой для больных, получающих ИТК, является прогностическая модель ELTS, наиболее достоверно отображающая ХМЛ-специфическую выживаемость. В зависимости от группы риска ELTS, ОВ больных ХМЛ ХФ для групп с низким, промежуточным и высоким риском к 30 месяцам

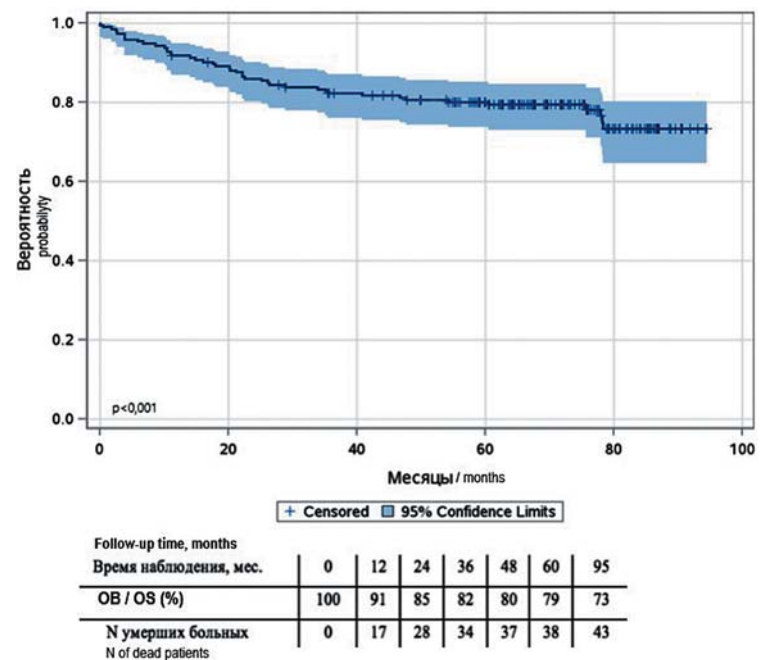
**Рисунок 2.** Общая выживаемость российской группы больных ХМЛ, получавших лечение ИТК в исследовании EUTOS PBS (n = 193)

Figure 2. Overall survival in the Russian group of patients with chronic myeloid leukemia having received TKI therapy in the EUTOS PBS study (n = 193)

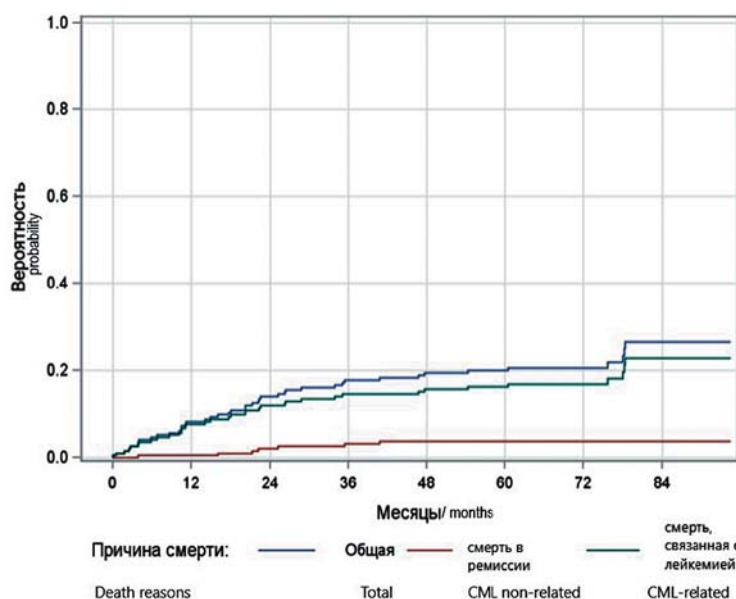
**Рисунок 1.** Вероятность смерти больных ХМЛ в зависимости от причины

Figure 1. Probability of death in patients with chronic myeloid leukemia, depending on the cause

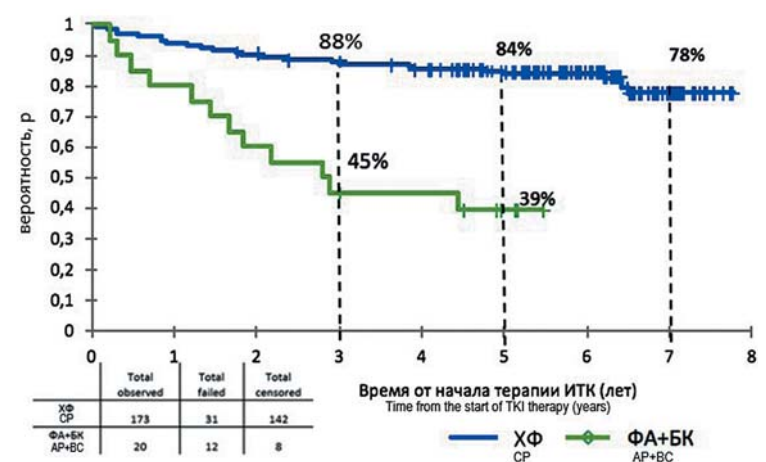
**Рисунок 3.** Общая выживаемость российской группы больных ХМЛ, получавших ИТК в исследовании EUTOS PBS, в зависимости от фазы заболевания на момент диагноза (n = 193)

Figure 3. Overall survival in the Russian group of patients with chronic myeloid leukemia having received TKI therapy in the EUTOS PBS study, depending on the phase of the disease at the time of diagnosis (n = 193)

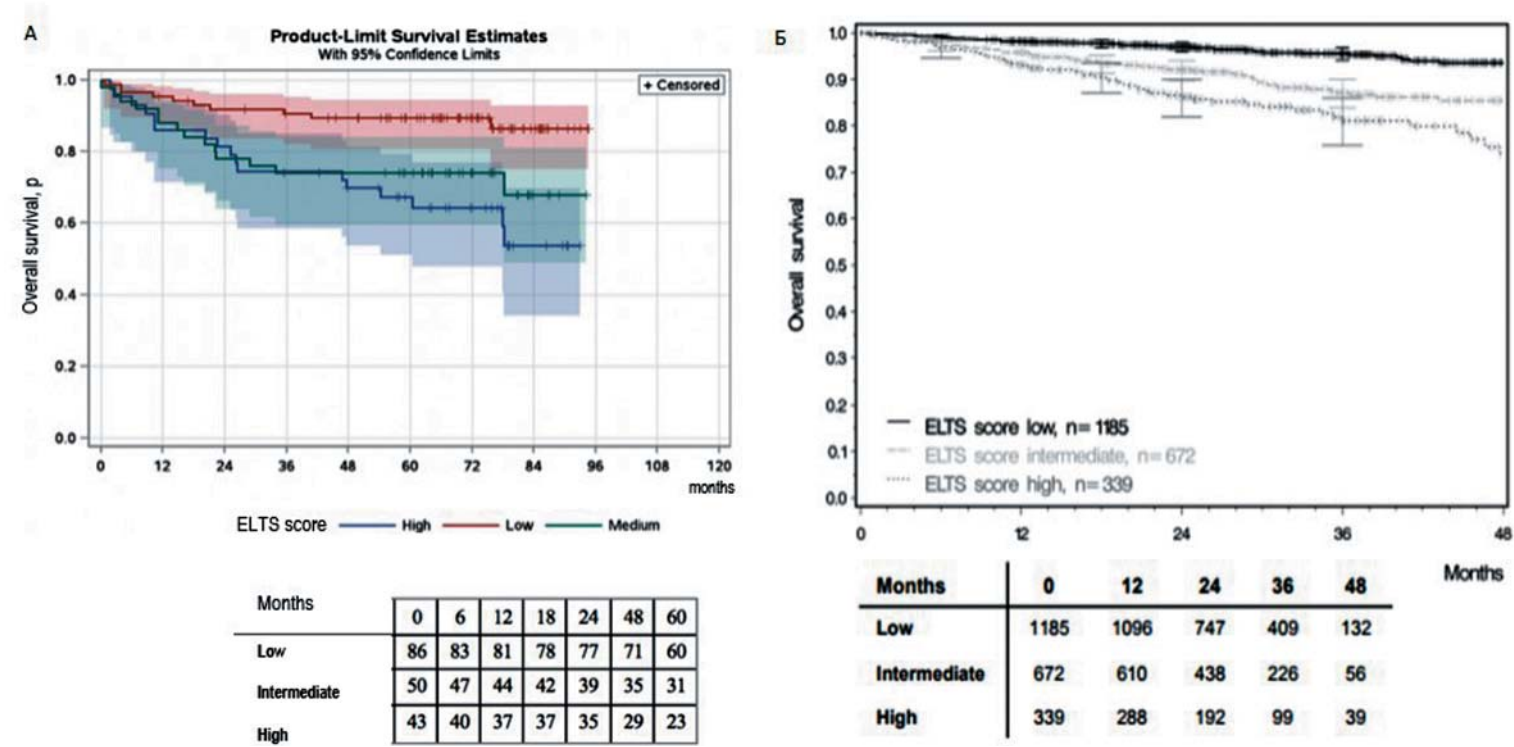


Рисунок 4. Общая выживаемость российской (n = 179) (А) и европейской (n = 2196) (Б) группы больных ХМЛ, получавших терапию ИТК, в зависимости от группы риска ELTS в исследовании EUTOS PBS

Figure 4. Overall survival in the Russian (n = 179) (A) and European (n = 2196) (B) groups of patients with chronic myeloid leukemia having received TKI therapy, depending on the ELTS risk group in the EUTOS PBS study

лечения составила 90 % (95 % ДИ 86–95 %), 74 % (95 % ДИ 62–88 %) и 70 % (95 % ДИ 61–88 %) соответственно; к 80 мес. терапии ИТК ОВ составила 88 % (95 % ДИ 78–94 %), 72 % (95 % ДИ 50–81 %) и 56 % (95 % ДИ 38–68 %) в группах низкого, промежуточного и высокого риска ELTS соответственно (рис. 4).

Выживаемость без прогрессирования (ВБП)

При прогрессии ХМЛ со сменой фазы умерло 5 из 20 больных, причем прогрессия заболевания у этих 5 больных отмечалась еще до начала терапии ИТК. ВБП к 12, 24 и 30 мес. составила 92 % (95 % ДИ 75–89 %), 87 % (95 % ДИ 66–82 %) с сохранением этого показателя вплоть до 95 мес. наблюдения. Достоверных различий ВПБ в зависимости от группы риска ELTS не было получено (p = 0,8).

Сопоставление результатов ОВ и ВБП в российском и европейском исследованиях представлено в таблице 5.

Вероятность достижения полного цитогенетического ответа

В российской части исследования время достижения первого ПЦО было возможно рассчитать у 179 из 193 больных (93 %), получавших ИТК. Всего за период терапии ИТК ПЦО был получен у 148 (83 %) из 179 больных. Медиана времени до получения ПЦО составила 12,5 мес. (от 2 до 47 мес.). Вероятность достижения ПЦО составила 47 % (95 % ДИ 42–54 %) и 66 % (95 %

ДИ 58–73 %) к 12 и 18 мес. терапии ИТК соответственно (рис. 5А). Медиана времени до первого ПЦО у больных составила 11,4 и 20,8 мес. для группы низкого и высокого риска EUTOS соответственно (p < 0,0102).

Возраст и пол больных не оказывали значительного влияния на время достижения первого ПЦО (p = 0,7113 и p = 0,6965 соответственно).

Вероятность достижения большого молекулярного ответа

Время достижения первого БМО возможно было рассчитать у 179 (93 %) из 193 больных, получавших ИТК. Доля больных, у которых был получен БМО, составила 67 % (112 человек) при Ме 20,7 мес. (3–59,5 мес.). Вероятность достижения БМО составила 21,6 % (95 % ДИ 16–28 %) и 43 % (95 % ДИ 35–50 %) к 12 и 18 мес. терапии ИТК соответственно (рис. 5Б).

Возраст и пол в российской группе больных не влияли на время достижения БМО (p = 0,6747 и p = 0,6249 соответственно).

Медиана времени до получения БМО была достоверно меньше для больных с низким риском EUTOS по сравнению с группой высокого риска: 18,8 мес. (95 % ДИ 41–58 %) против 38 мес. (95 % ДИ 31–68 %), p = 0,0661. Вероятности достижения БМО к 12 мес. терапии составила 24 % (95 % ДИ 17–31 %) и 11,4 % (95 % ДИ 2–26 %) для группы низкого и высокого риска EUTOS соответственно.

Таблица 5. Характеристика показателей общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования в российской и европейской группе больных ХМЛ EUTOS PBS

Table 5. Characteristics of the overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) rates in the Russian and European groups of patients with chronic myeloid leukemia, EUTOS PBS

Показатели Indicators	EUTOS PBS РФ (95 % ДИ) (95 % CI)	PBS Европа (95 % ДИ) (95 % CI)
ОВ к 12 мес., % OS at 12 months, %	93 (88–97 %)	97 (96–97 %)
ОВ к 24 мес., % OS at 24 months, %	87 (80–90 %)	94 (93–95 %)
ОВ к 30 мес., % OS at 30 months, %	84 (79–90 %)	92 (91–93 %)
ОВ с низким риском по шкале ELTS (Ме 30 мес.), % OS with a low risk by ELTS (Me 30 months), %	92 (87–97 %)	96 (94–97 %)
ОВ с промежуточным риском по шкале ELTS (Ме 30 мес.), % OS with an intermediate risk by ELTS (Me 30 months), %	78 (62–87 %)	89 (86–92 %)
ОВ с высоким риском по шкале ELTS (Ме 30 мес.), % OS with a high risk by ELTS (Me 30 months), %	81 (59–86 %)	84 (79–88 %)
ВБП к 12 мес., % PFS at 12 months, %	92 (75–89 %)	95 (94–96 %)
ВБП к 24 мес., % PFS at 24 months, %	87 (66–82 %)	92 (91–93 %)
ВБП к 30 мес., % PFS at 30 months, %	87 (65–81 %)	90 (88–91 %)

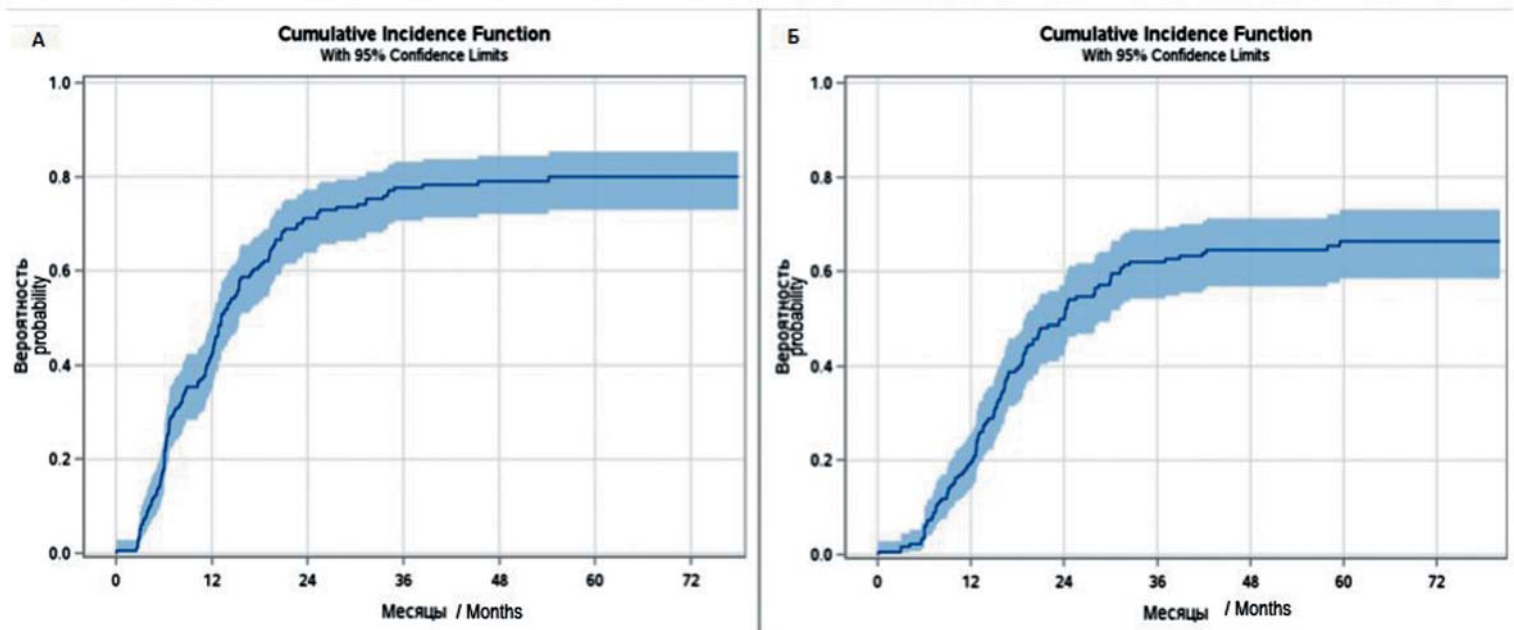


Рисунок 5. Вероятность достижения ПЦО (А) и БМО (Б) в российской когорте больных ХМЛ в исследовании EUTOS PBS

Figure 5. Probability of achieving a complete cytogenetic response (A) and a major molecular response (B) in the Russian cohort of patients with CML in the EUTOS PBS study

Таблица 6. Вероятность достижения полного цитогенетического и большого молекулярного ответа в российской и европейской когортах больных ХМЛ в исследовании EUTOS PBS
Table 6. Probability of achieving a complete cytogenetic and a major molecular response in the Russian and European cohort of CML patients in the EUTOS PBS study (CCyR — complete cytogenetic response; MMR — major molecular response)

Показатели Indicators	PBS РФ (95 % ДИ) PBS Russia (95 % CI)	PBS Европа (95 % ДИ) PBS Europe (95% CI)
ПЦО, n (%) больных в анализе CCyR, n (%) patients under study	179 (93 %)	1491 (64 %)
Ме срока достижения первого ПЦО, мес. Median time to reach the first CCyR, months	12,5 (42–57 %)	10 (нд)
ПЦО к 12 месяцев терапии ИТК, % CCyR at 12 months of TKI therapy, %	47 (42–54 %)	57 (58–73 %)
ПЦО к 18 месяцев терапии ИТК, % CCyR at 18 months of TKI therapy, %	66 (58–73 %)	76 (74–79 %)
БМО, n (%) больных в анализе MMR, n (%) patients under study	179 (93 %)	1259 (54 %)
Ме срока достижения первого БМО, мес. Median time to reach the first MMR, months	20,7	15
БМО к 12 месяцев терапии ИТК, % MMR at 12 months of TKI therapy, %	21,6 (14–26 %)	41 (38–44 %)
БМО к 18 месяцев терапии ИТК, % MMR at 18 months of TKI therapy, %	43 (35–50 %)	64 (нд)

Сопоставление вероятности достижения ПЦО и БМО в российской и европейской когортах больных представлено в таблице 6.

Молекулярный ответ в российской когорте больных ХМЛ на момент подведения итогов исследования

К октябрю 2017 г. живы 141 (73 %) из 193 больных; продолжают лечение ИТК в российской части исследования EUTOS PBS 137 больных; медиана лечения 71,3 мес. (от 36 до 93 мес.). Жизненный статус 9 больных обновить не удалось. Сняты с лечения ИТК 4 больных из-за неэффективности проводимой терапии ИТК.

У 92 (65 %) из 137 больных по результатам последней оценки данных молекулярно-генетического исследования определялся БМО по критериям ELN [3]. У остальных 4 (35 %) больных уровень BCR-ABL составлял более 0,1 %.

Обсуждение

Международное многоцентровое проспективное наблюдательное исследование EUTOS PBS, в которое были включены все взрослые больные с впервые диагностированным Ph+ и/или BCR-ABL1+ ХМЛ на протяжении периода около 5 лет в 20 странах Европы объективизирует особенности популяции больных ХМЛ и позволяет проанализировать эффективность применяемых методов лечения в эру таргетной терапии ИТК. Полученная информация дает представление о том, насколько сопоставимы клинико-демографические характеристики больных российской и общеевропейской когорт; позволяет определить особенности выбора терапии ИТК первой и второй

линий в РФ и Европе и сопоставить результаты терапии. Продление исследования в российской когорте больных сделало возможным анализ результатов терапии на более поздних сроках наблюдения. Медиана наблюдения в российской группе больных составила 69 (0,7–95) мес., в то время как согласно данным по общеевропейской когорте этот показатель составил 29 (от 9 дней до 73 мес.) мес.

Распределение больных по фазам ХМЛ в российской когорте оказалось сопоставимым с общеевропейской группой. Как в РФ, так и в Европе заболевание в подавляющем большинстве случаев (93–94 %) диагностируется в ХФ; продвинутые фазы ХМЛ (ФА и БК) суммарно составляют около 6 %.

Соотношение мужчин и женщин в европейской когорте больных составило 1,16:1, в российской — 1,02:1. Медиана возраста больных ХМЛ в нашей стране ниже по сравнению с европейскими странами: 50 и 55 лет. Кроме того, обращает на себя внимание существенно меньший возраст больных-мужчин в РФ (Ме 44 года) по сравнению с больными из Европы (Ме 57 лет). Возрастные особенности заболеваемости ХМЛ в РФ и ее отличия от таковой в европейских странах проанализированы нами в предыдущей публикации [5]. Установлено, что в группе старше 70 лет стандартизованная заболеваемость в РФ в 5–10 раз ниже европейских показателей для больных ХМЛ, что свидетельствует о низком уровне выявления и скрининговой диагностики ХМЛ в первичном звене у лиц пенсионного возраста [5, 8]. В связи с низкой регистрируемой заболеваемостью в старших возрастных группах и общая заболеваемость ХМЛ в нашей стране ниже европейской.

При сопоставлении данных о распределении больных с ХФ ХМЛ в соответствии с разными прогностическими шкалами (табл. 2) отмечено, что доля больных с группой высокого риска в российской когорте выше, что наиболее ярко отражено при оценке по шкале ELTS (24 vs 16 %). Выявленные различия могут свидетельствовать о более поздней диагностике и регистрации больных в РФ.

Препаратом выбора первой линии терапии ХМЛ как в России, так и в Европе в большинстве случаев являлся ИТК первого поколения ИМ: 97 и 80 % соответственно (табл. 3). Доля больных, получавших ИТК2 в первой линии лечения, в РФ была меньше по сравнению с Европой: 3 vs 17 %. Перевод на вторую линию ИТК в российской когорте больных осуществлялся у 12 % больных против 26 % в европейской когорте. В значительной степени это обусловлено тем, что в Европе доля больных ХМЛ, получавших терапию в рамках клинических исследований, была выше, чем в РФ: 20 vs 3 %.

Доля больных ХМЛ, которые не получали терапию ИТК, сопоставима в европейской и российской когортах: 3 и 2 % соответственно. В литературе обсуждается вопрос, что эта тактика ведения больных применяется в ряде случаев у пожилых больных старше 80 лет [9, 19]. Возраст российских больных, не получивших ИТК для лечения ХМЛ, составил 45, 53, 79 и 82 года, причины отсутствия терапии у больных более молодого возраста не установлены. Предположительно, это могли быть организационные проблемы обеспечения терапией либо непонимание больными важности терапии ИТК.

На 1-м и 2-м году наблюдения в российской когорте отмечено наибольшее число смертей, связанных с прогрессией ХМЛ, а доля больных, у которых причина смерти не была связана с лейкемией («смерть в ремиссии»), составила 11 % в российской когорте больных против 20 % в европейской. В Европе ХМЛ эффективно выявляется и у больных старшего возраста, поэтому можно предположить, что причины смерти у пожилых больных ХМЛ в Европе все чаще не связаны с основным заболеванием. Отдельная категория — умершие больные, у которых смерть произошла при наличии признаков ХМЛ, без ремиссии, но без прогрессирования со сменой фазы. В российской и европейской когортах доля этих больных была идентичной и составила 46 %. Причины этих смертей могут быть связаны с ХМЛ и его лечением, сопутствующими заболеваниями, в том числе не позволяющими достичь ремиссии. Таким образом, при характеристике выживаемости больных ХМЛ важно анализировать как ОВ и ВБП, так и выживаемость, связанную с лейкемией.

По результатам исследования EUTOS PBS, ОВ больных ХМЛ в Европе была несколько выше во всех контрольных точках по сравнению с ОВ в РФ (табл. 5). Это может быть связано с различиями в организации лечебного процесса, включающего в себя раннее на-

значение ИТК после диагностики ХМЛ, обеспечение лечением на весь срок наблюдения, своевременный мониторинг минимальной остаточной болезни и соблюдение режима терапии больным (комплаентность), другими социально-демографическими факторами, влияющими на приверженность к лечению.

Прогрессия ХМЛ до ФА и БК в европейской группе отмечалась у 113 больных (4,8 %), 63 (2,7 %) из них умерли. Доля смертей по причине прогрессии в европейской когорте составила 34 %, в российской — 43 %. Вероятность ВБП была сопоставима в российской и европейской когортах.

При оценке эффективности терапии ИТК на основании снижения клиренса опухолевой массы цитогенетическим и молекулярно-генетическим методом следует отметить, что достижение ПЦО и БМО рассчитывались с использованием различных методов [11] — как по всему европейскому регистру EUTOS PBS, так и в отдельно взятых его разделах, что иногда приводило к некоторым отклонениям в результатах. V. Hoffman и соавт. провели аналогию с данными некоторых клинических исследований и демонстрируют, что показатели ПЦО и БМО ответов в популяционном EUTOS регистре аналогичны данным, полученным в рандомизированных клинических исследованиях. Возраст больных не влиял на возможность достижения ответа на терапию, поэтому нет оснований для отказа от применения ИТК у пожилых больных.

Вероятность достижения ПЦО составила 47 vs 57 % на сроке 12 мес., 66 vs 76 % на сроке 18 мес. в РФ и Европе соответственно. Вероятность достижения БМО также различалась и составляла 21,6 vs 41 % к 12 мес., 41 vs 64 % к 18 мес. лечения ИТК в российской и европейской когорте (табл. 5). Медиана времени достижения ПЦО составила 12,5 vs 10 мес., Ме времени достижения БМО была 20,7 vs 15 мес. в российской когорте и европейской когорте соответственно. Указанные различия могут быть связаны с большим числом больных в Европе, которые получали терапию более эффективными ИТК2; также нельзя исключить, что сравнительно большая доля больных с высоким риском ELTS в РФ могла повлиять на эти показатели. Выявленная разница может частично объясняться разным смещением статистических оценок, вызванных нерегулярностью мониторинга и полнотой информации.

По данным популяционного регистра в Швеции [4], к 12 месяцам лечения ИТК 66 % больных достигли ПЦО и 36 % получили БМО. Полученные в российской когорте результаты являются вполне сопоставимыми с этими данными.

Наблюдательное исследование EUTOS PBS показало, что в странах Европы рекомендации ELN по применению ИТК широко применяются для выбора тактики терапии ХМЛ. Важно подчеркнуть, что попу-

Таблица 7. Молекулярный ответ у больных ХМЛ в российской части исследования EUTOS PBS на момент подведения итогов исследования
Table 7. Molecular response in CML patients in the Russian part of the EUTOS PBS study at the time of analysis

Критерии ответа ELN Response criteria by ELN	Число больных Number of patients		
	PBS РФ, n = 137 PBS Russia, n = 137	1-я линия ИТК, n = 121 (88 %) 1st line of TKI, n = 121 (88 %)	2–3-я линия ИТК, n = 16 (12 %) 2nd–3rd line of TKI, n = 16 (12 %)
Уровень BCR-ABL ≤0,1 % (БМО) BCR-ABL lower or equal to 0.1 % (MMR)	92	84	8
Уровень BCR-ABL более 0,1 и менее 1 % (МО2) BCR-ABL higher than 0.1% and lower than 1% (MR2)	15	10	5
Уровень BCR-ABL более 1 % (отсутствие МО2) BCR-ABL higher than 1% (absence of MR2)	30	27	3

ляционный регистр EUTOS PBS содержит в основном данные о лечении ИМ в первой линии, поскольку большинство больных получали именно эти ИТК, когда доступность и использование ИТК второго поколения еще была ограничена. Начиная с 2013–2014 гг. в Европе наблюдалась тенденция к более частому и более раннему использованию ИТК 2-го поколения. После появления публикаций о важности ранней диагностики неудачи терапии (на первом году лечения), принципы раннего переключения при неудаче терапии первой линии ИТК также стали применяться в клинической практике, что, несомненно, сказалось на улучшении результатов терапии, сокращении числа ранних неблагоприятных событий, в том числе прогрессии со сменой фазы и летальности в целом [15].

Таким образом, по результатам оценки эффективности терапии ИТК в международном многоцентровом проспективном наблюдательном исследовании EUTOS PBS подтверждено, что успехи терапии ХМЛ, о которых сообщалось в рандомизированных исследованиях, в значительной степени достигаются и на популяционном уровне. Популяционные данные, подобные представленным в этой статье, позволяют оценить адекватность экстраполяции результатов клинических исследований, что является важным требованием к научным исследованиям в соответствии с принципами доказательной медицины.

Анализ данных российской части популяционного исследования EUTOS PBS продемонстрировал достаточную полноту данных по мониторингу жизненного и клинического статуса больных ХМЛ в России, позволяющую судить о долгосрочных результатах лечения

и сопровождения этих больных. Полученные в российской когорте результаты ответа на терапию при сопоставлении с европейской когортой по ряду показателей оказались ниже, чем в общеевропейской группе. Выявленные различия можно объяснить проблемами организации лечения в части тщательности соблюдения регламента лабораторного мониторинга и недостаточным использованием имеющегося на сегодняшний день арсенала терапевтических средств, применяемых для лечения ХМЛ. В российской когорте были также перерывы в приеме ИТК, меньше использованы возможности обеспечения высокоэффективными препаратами ИТК2, которые имеют высокую стоимость. Таким образом, административные и организационные причины могут вносить свой вклад в развитие неблагоприятных последствий и снижать вероятность получения ответа на терапию.

Ожидается, что распространенность ХМЛ в будущем будет значительно расти [16, 17]. Эта тенденция подчеркивает важность регистрации, учета и мониторинга больных данной нозологии. Необходимо не только планировать лечение болезни и совершенствовать протоколы, но и оптимизировать процедуры администрирования и управления в целевой популяции больных в современных условиях бюджетных ограничений. Эпидемиологические исследования имеют большое значение для разработки стратегий долгосрочного лечения, включая выбор и дозировки выбранного лекарственного средства, оптимизацию условий контролируемого прекращения лекарственной терапии у больных ХМЛ после достижения стабильной глубокой молекулярной ремиссии.

Литература

1. Chereda B., Melo J.V. Natural course and biology of CML. *Ann Hematol.* 2015; 94(2): 107–121.
2. Hehlmann R., Hochhaus A., Baccarani M. Chronic myeloid leukaemia. *The Lancet.* 2007; 370(9584): 342–50.
3. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood.* 2013;122(6): 872–84.
4. Bower H., Bjorkholm M., Dickman P.W., et al. Life expectancy of patients with chronic myeloid leukemia approaches the life expectancy of the general population. *Journal of Clinical Oncology.* 2016;34: 2851–7.
5. Куликов С.М., Виноградова О.Ю., Чельшева Е.Ю. и др. Заболеваемость хроническим миелолейкозом в регионах России по данным популяционного исследования 2009–2012 гг. *Терапевтический архив.* 2014; 86(7): 24–30.
6. Hehlmann R., Grimwade D., Simonsson B., et al. The European LeukemiaNet: achievements and perspectives. *Haematologica.* 2011; 96(1): 156–62.
7. Hoglund M., Sandin F., Hellstrom K., et al. Tyrosine kinase inhibitor usage, treatment outcome, and prognostic scores in CML: report from the population-based Swedish CML registry. *Blood.* 2013; 122(7): 1284–92.
8. Куликов С.М., Виноградова О.Ю., Чельшева Е.Ю. и др. Анализ возрастных аномалий регистрируемой заболеваемости больных хроническим миелолейкозом. *Гематология и трансфузиология.* 2014; 1: 99–100.
9. Hoffmann V.S., Baccarani M., Hasford J., et al. The EUTOS population-based registry: incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 European Countries. *Leukemia.* 2015; 29(6): 1336–43.
10. Лазарева О.В., Туркина А.Г., Чельшева Е.Ю. и др. Клиническая и гематологическая характеристика больных хроническим миелолейкозом в современных условиях: результаты российской части международного многоцентрового проспективного популяционного исследования EUTOS Population-based CML Study. *Клиническая онкогематология.* 2017; 10(1): 65–74. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-65-74
11. Hoffmann V.S., Baccarani M., Hasford J., et al. Treatment and outcome of 2904 CML patients from the EUTOS population-based registry *Leukemia.* 2017; 31(3): 593–601. DOI: 10.1038/leu.2016.246
12. Sokal J.E., Cox E.B., Baccarani M., et al. Prognostic discrimination in «good risk» chronic granulocytic leukemia. *Blood.* 1984; 63(4): 789–99.
13. Hasford J., Baccarani M., Hoffmann V., et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood.* 2011; 118(3): 686–92. DOI: 10.1182/blood-2010-12-319038
14. Pfirrmann M., Baccarani M., Saussele S., et al. Prognosis of long-term survival considering disease-specific death in patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2016; 30(1): 48–56.
15. Thielen N., Visser O., Ossenkoppele G., Janssen J. Chronic Myeloid Leukaemia in The Netherlands: a Population-Based Study on Incidence, Treatment and Survival in 3,585 Patients from 1989–2012. *Eur J Haematol.* 2016; 97(2): 145–54.
16. Storey S. Chronic myelogenous leukaemia market. *Nat Rev Drug Discov.* 2009; 8(6): 447–8.
17. Huang X., Cortes J., Kantarjian H. Estimation of the increasing prevalence and plateau prevalence of chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Cancer.* 2012; 118(12): 3123–7.

References

1. Chereda B., Melo J.V. Natural course and biology of CML. *Ann Hematol.* 2015; 94(2): 107–121.
2. Hehlmann R., Hochhaus A., Baccarani M. Chronic myeloid leukaemia. *The Lancet.* 2007; 370(9584): 342–50.
3. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood.* 2013;122(6): 872–84.
4. Bower H., Bjorkholm M., Dickman P.W., et al. Life expectancy of patients with chronic myeloid leukemia approaches the life expectancy of the general population. *Journal of Clinical Oncology.* 2016;34: 2851–7.
5. Kulikov S.M., Vinogradova O.Yu., Chelysheva E.Yu., et al. The incidence of chronic myeloid leukemia in 6 regions of Russia according to a population-based study of the Russian Federation. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2014;86(7):24–30 (In Russian).
6. Hehlmann R., Grimwade D., Simonsson B., et al. The European LeukemiaNet: achievements and perspectives. *Haematologica.* 2011; 96(1): 156–62.
7. Hoglund M., Sandin F., Hellstrom K., et al. Tyrosine kinase inhibitor usage, treatment outcome, and prognostic scores in CML: report from the population-based Swedish CML registry. *Blood.* 2013; 122(7): 1284–92.
8. Kulikov S.M., Vinogradova O.Yu., Chelysheva E.Yu., et al. Analysis of age-related anomalies in the recorded incidence of patients with chronic myeloid leukemia. *Gematologiya i transfuziologiya.* 2014; 1: 99–100 (In Russian).
9. Hoffmann V.S., Baccarani M., Hasford J., et al. The EUTOS population-based registry: incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 European Countries. *Leukemia.* 2015; 29(6): 1336–43.
10. Lazareva O.V., Turkina A.G., Chelysheva E.Yu., et al. Clinical and hematological characteristics of patients with chronic myeloid leukemia in modern conditions: results of the Russian part of the international multicenter prospective population study EUTOS Population-based CML Study. *Klinicheskaya onkogematologiya.* 2017; 10(1): 65–74 (In Russian). DOI: 10.21320 / 2500-2139-2017-10-1-65-74
11. Hoffmann V.S., Baccarani M., Hasford J., et al. Treatment and outcome of 2904 CML patients from the EUTOS population-based registry *Leukemia.* 2017; 31(3): 593–601. DOI: 10.1038/leu.2016.246
12. Sokal J.E., Cox E.B., Baccarani M., et al. Prognostic discrimination in «good risk» chronic granulocytic leukemia. *Blood.* 1984; 63(4): 789–99.
13. Hasford J., Baccarani M., Hoffmann V., et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood.* 2011; 118(3): 686–92. DOI: 10.1182/blood-2010-12-319038
14. Pfirrmann M., Baccarani M., Saussele S., et al. Prognosis of long-term survival considering disease-specific death in patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2016; 30(1): 48–56.
15. Thielen N., Visser O., Ossenkoppele G., Janssen J. Chronic Myeloid Leukaemia in The Netherlands: a Population-Based Study on Incidence, Treatment and Survival in 3,585 Patients from 1989–2012. *Eur J Haematol.* 2016; 97(2): 145–54.
16. Storey S. Chronic myelogenous leukaemia market. *Nat Rev Drug Discov.* 2009; 8(6): 447–8.
17. Huang X., Cortes J., Kantarjian H. Estimation of the increasing prevalence and plateau prevalence of chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Cancer.* 2012; 118(12): 3123–7.

Информация об авторах

Туркина Анна Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель научно-консультативного отделения 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>

Лазарева Ольга Вениаминовна*, кандидат медицинских наук, руководитель сектора организационно-методического и научно-методического руководства по оказанию медицинской помощи по профилю «гематология» ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: stakhino@gmail.com, lazareva.o@blood.ru, тел.: +7(495)612-51-71;
125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-0445>

Челышева Екатерина Юрьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-консультативного отделения химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: denve@bk.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6423-1789>

Шухов Олег Александрович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения, врач-гематолог.
e-mail: shuhov@list.ru, тел.: +7(495)612-16-36
ORCID : <https://orcid.org/0000-0001-5393-0816>

Куликов Сергей Михайлович, кандидат технических наук, руководитель информационно-аналитического отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: smkulikov@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

Куликовский Антон Александрович, сотрудник информационно-аналитического отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: kulitosha@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0735-5694>

Галайко Мария Владимировна, врач-гематолог Центральной клинической больницы № 2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД»,
e-mail: loima@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5375-0273>

Сендерова Ольга Михайловна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог, ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница ордена «Знак Почета»,
e-mail: o_senderova@mail.ru;
664049, г. Иркутск, микрорайон Юбилейный, 100.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3382-3284>

Information about the authors

Anna G. Turkina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Research and 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>

Olga V. Lazareva*, Cand. Sci. (Med.), Head of the Methodological and Research Centre for the Provision of Medical Hematology Care, National Research Center for Hematology,
e-mail: stakhino@gmail.com, lazareva.o@blood.ru, tel.: +7(495)612-51-71;
125167, Moscow, Novyy Zykovskiy proezd, 4.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-0445>

Ekaterina Yu. Chelysheva, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Research and Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology,
e-mail: denve@bk.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6423-1789>

Oleg A. Shukhov, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Hematologist.
e-mail: shuhov@list.ru, tel.: +7(495)612-16-36
ORCID : <https://orcid.org/0000-0001-5393-0816>

Sergey M. Kulikov, Cand. Sci. (Engineering), Head of the Information and Analysis Department, National Research Centre of Hematology,
e-mail: smkulikov@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

Anton A. Kulikovsky, Employee, Information and Analysis Department, National Research Centre of Hematology,
e-mail: kulitosha@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0735-5694>

Maria V. Galayko, Hematologist, N.A. Semashko Central Clinical Hospital No. 2, JSC "Russian Railways",
e-mail: loima@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5375-0273>

Olga M. Senderova, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Irkutsk Regional Clinical Hospital,
e-mail: o_senderova@mail.ru;
664049, Irkutsk, Yubileiny district, 100.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3382-3284>

Пепеляева Валентина Михайловна, врач-гематолог ГБУЗ Пермского края «Пермская краевая клиническая больница»,
e-mail: pepelyaeva_v@mail.ru

Мересий Сергей Васильевич, врач-гематолог ГБУЗ Пермского края «Клиническая медико-санитарная часть № 1»,
e-mail: meresiy@mail.ru

Лучинин Александр Сергеевич, кандидат медицинских наук, врач-гематолог клинко-диагностического отделения, ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства»,
e-mail: glivec@mail.ru;
610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5016-210X>

Милютин Галина Ивановна, врач-гематолог, ГАУЗ «Брянская областная больница № 1»,
e-mail: milga_i@mail.ru;
241033, г. Брянск, пр-т Станке Димитрова, 86.

Гаврилова Любовь Владимировна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог ГБУЗ Республики Мордовия «Республиканская клиническая больница № 4» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: LVG9@yandex.ru;
430032, г. Саранск, ул. Ульянова, 32.

Авдеева Людмила Борисовна, врач-гематолог ГБУЗ Забайкальского края «Краевая клиническая больница»,
e-mail: gemo_chita@mail.ru

Дашеева Долгоржар Баторовна, врач-гематолог высшей категории ГУЗ «Забайкальский краевой онкологический диспансер»,
e-mail: elena_dash67@mail.ru;
672012, г. Чита, ул. Ленинградская, 104.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2900-2101>

Виноградова Ольга Юрьевна, доктор медицинских наук, заведующая Московским городским гематологическим центром ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» Департамента здравоохранения города Москвы, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный научный сотрудник отдела кооперативных исследований в гематологии и онкологии у подростков и взрослых ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: olgavinz@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3669-0141>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 17.02.2019

Принята к печати: 14.05.2019

Valentina M. Pepelyaeva, Hematologist, Perm Regional Clinical Hospital,
e-mail: pepelyaeva_v@mail.ru

Sergey V. Meresiy, Hematologist, Clinical Medical Unit No. 1 of Perm Krai,
e-mail: meresiy@mail.ru

Alexander S. Luchinin, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Clinical Diagnostic Department, Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion,
e-mail: glivec@mail.ru;
610027, Kirov, Krasnoarmeyskaya str., 72.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5016-210X>

Galina I. Milyutina, Hematologist, Bryansk Regional Hospital No. 1,
e-mail: milga_i@mail.ru;
241033, Bryansk, Stanke Dimitrova prospect, 86.

Lyubov V. Gavrilova, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Mordovia Republican Clinical Hospital No. 4,
e-mail: LVG9@yandex.ru;
430032, Saransk, Ulyanova str., 32.

Lyudmila B. Avdeeva, Hematologist, Trans-Baikal Regional Clinical Hospital,
e-mail: gemo_chita@mail.ru

Dolgorzhap B. Dasheeva, Hematologist of the highest category, Trans-Baikal Regional Oncology Centre,
e-mail: elena_dash67@mail.ru;
672012, Chita, Leningradskaya str., 104.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2900-2101>

Olga Yu. Vinogradova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Moscow City Hematology Center, S.P. Botkin City Clinical Hospital; Prof., Department of Oncology, Hematology and Radiation Therapy, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University; Chief Researcher, Department of Cooperative Research in Hematology and Oncology in Adolescents and Adults, Dmitry Rogachev National Medical Research Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
e-mail: olgavinz@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3669-0141>

*** Corresponding author**

Received 17 Feb 2019

Accepted 14 May 2019



НАЦИОНАЛЬНОЕ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО



V Конгресс
Гематологов
России

V КОНГРЕСС ГЕМАТОЛОГОВ РОССИИ

16–18 АПРЕЛЯ 2020 ГОДА, МОСКВА

Глубокоуважаемые коллеги!

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ ИМЕНИ ДМИТРИЯ РОДЧЕВА» МИНЗДРАВА РОССИИ
НАЦИОНАЛЬНОЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО
НАЦИОНАЛЬНОЕ ОБЩЕСТВО ДЕТСКИХ ГЕМАТОЛОГОВ И ОНКОЛОГОВ
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО ОНКОГЕМАТОЛОГОВ

**ПРОВОДЯТ 16–18 АПРЕЛЯ 2020 ГОДА В МОСКВЕ
V КОНГРЕСС ГЕМАТОЛОГОВ РОССИИ**

**Место проведения: Конгресс-Парк гостиницы
«Украина», г. Москва, Кутузовский пр., 2/1, стр. 1
Вся информация по Конгрессу будет размещена
на сайте Национального гематологического
общества (НГО) <https://npngo.ru>**

**На сайте НГО открыта регистрация
и подача тезисов на
V Конгресс гематологов России!**

Регистрация on-line открыта до

01.04.2020

Прием тезисов on-line открыт до

30.11.2019

Все зарегистрировавшиеся участники
будут обеспечены материалами
Конгресса. Участие в Конгрессе
не предусматривает регистрационных
взносов.

Программа секционных заседаний,
а также постерная сессия будут
формироваться на основе отбора лучших
тезисов экспертным советом Конгресса.

<https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-123-137>

ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К КЛИНИЧЕСКИМ ПРОЯВЛЕНИЯМ ОСТРОЙ ПЕРЕМЕЖАЮЩЕЙСЯ ПОРФИРИИ

Пшеничникова О. С.*, Гончарова М. В., Пустовойт Я. С., Карпова И. В., Сурин В. Л.

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Острая перемежающаяся порфирия (ОПП) — наиболее распространенная и тяжело протекающая форма острых печеночных порфирий. ОПП обусловлена дефицитом третьего фермента системы биосинтеза гема — гидроксиметилбилан синтазы (HMBS) и имеет доминантный тип наследования, однако вероятность ее клинического проявления у носителей мутации в гене *HMBS* составляет лишь 10–20 %. Это позволяет предположить, что наличие такой мутации является необходимым, но недостаточным условием для развития заболевания.

Цель исследования: поиск дополнительных генетических факторов, предопределяющих клиническую пенетрантность ОПП, с использованием полноэкзомного секвенирования.

Материалы и методы. Секвенирование полного экзона было проведено с набором TruSeq Exome Library Prep kit (Illumina) на приборе Illumina HiSeq4000 для 6 женщин, больных ОПП, с известными мутациями в гене *HMBS*, у которых заболевание протекало в тяжелой форме. В качестве референсного использовали версию генома человека hg19.

Результаты. Общих мутаций у обследованных больных не выявлено, однако для каждой из них найдены функциональные вариации в генах, относящихся к системам детоксикации, регуляции каскада биосинтеза гема и экспрессии синтазы дельта-аминолевулиновой кислоты (*ALAS1*) и в генах белков-регуляторов нервной системы. Эти варианты требуют дальнейшего изучения на расширенных выборках больных с манифестацией ОПП и их родственников, являющихся бессимптомными носителями нарушений в гене *HMBS*.

Заключение. Полученные результаты позволили высказать гипотезу о возможной роли в пенетрантности ОПП генетических дефектов, определяющих развитие других неврологических патологий, о чем свидетельствует наличие у 5 из 6 обследованных больных патогенных вариаций в генах, дефекты в которых ассоциированы с наследственной миастенией и мышечной атрофией.

Ключевые слова: острая перемежающаяся порфирия, молекулярно-генетический анализ, наследственные заболевания, бессимптомное носительство

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: данное исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 17-04-01605.

Для цитирования: Пшеничникова О.С., Гончарова М.В., Пустовойт Я.С., Карпова И.В., Сурин В.Л. Пилотное исследование генетической предрасположенности к клиническим проявлениям острой перемежающейся порфирии. *Гематология и трансфузиология*. 2019; 64(2):123–137. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-123-137>

PILOT RESEARCH OF A GENETIC PREDISPOSITION FOR CLINICAL MANIFESTATIONS OF ACUTE INTERMITTENT PORPHYRIA

Pshenichnikova O.S.*, Goncharova M.V., Pustovoit Y.S., Karpova I.V., Surin V.L.

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

ABSTRACT

Introduction. Acute intermittent porphyria (AIP) is the most common and severe form of acute hepatic porphyria. AIP is caused by a deficiency in the third enzyme of the heme biosynthesis system — hydroxymethylbilanin synthase (HMBS) — and has a dominant inheritance type. However, the probability of the clinical manifestation of this condition in carriers of the mutation in the *HMBS* gene constitutes only 10–20 %. This suggests that the presence of such a mutation can be a necessary but not a sufficient condition for the development of the disease.

Aim. To search for additional genetic factors, which determine the clinical penetrance of AIP using Whole-Exome Sequencing.

Materials and methods. Sequencing of the whole exome was performed using a TruSeqExomeLibraryPrepkit (Illumina) kit by an Illumina HiSeq4000 instrument for 6 women with AIP with known mutations in the *HMBS* gene. All the patients suffered from a severe form of the disease. As a reference, a version of the hg19 human genome was used.

Results. No common mutations were found in the examined patients. However, in each patient, functional variations were found in the genes related to detoxification systems, regulation of the heme biosynthesis cascade and expression of delta-aminolevulinic acid synthase (*ALAS1*) and in genes of proteins regulating nervous system. These variations require further study involving an extended number of patients with AIP manifestations and their relatives, who are asymptomatic carriers of disorders in the gene *HMBS*.

Conclusions. The results obtained have allowed us to formulate a hypothesis about a possible role of genetic defects in the penetrance of AIP, which determine the development of other neurological pathologies. This is evidenced by the presence of gene pathogenic variations in 5 out of 6 examined patients, defects in which are associated with hereditary myasthenia and muscle atrophy.

Keywords: acute intermittent porphyria, molecular genetic analysis, hereditary diseases, asymptomatic carriage

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

Financial disclosure: the study was supported by the RFBR grant No. 17-04-01605.

For citation: Pshenichnikova O. S., Goncharova M. V., Pustovoit Y. S., Karpova I.V., Surin V.L. Pilot research of a genetic predisposition for clinical manifestations of acute intermittent porphyria. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2019; 64(2):123–137 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-123-137>

Введение

Гем выступает в качестве простетической группы для многочисленных гем-содержащих белков, включающих цитохромы, каталазы, синтазу оксида азота, гемоглобин и миоглобин, и участвует в многочисленных регуляторных системах, управляющих процессами транскрипции, трансляции, процессинга микроРНК и циркадными ритмами [1–4]. Избыток гема и его предшественников приводит к образованию реактивных форм кислорода. Биосинтез гема в эукариотических организмах осуществляется в 8 стадий, и нарушения в любом из участвующих в них ферментов приводят к развитию различных вариантов порфирии, обусловленных накоплением в организме токсичных предшественников гема. Острая перемежающаяся порфирия (ОПП) связана с дефицитом третьего фермента биосинтеза гема — гидроксиметилбилан синтазы (HMBs), или другое название — порфобилиноген дезаминазы (PBGD) [5, 6]. Заболевание имеет приступообразное течение, сопровождающееся прогрессирующим поражением нервной системы, что обусловлено воздействием токсичных порфириновых предшественников (δ -аминолевулиновой кислоты и порфобилиногена) на висцеральную, периферическую, автономную и центральную нервную системы (ЦНС). Приступ проявляется болями в животе, тошнотой, рвотой, тахикардией и гипертонией. Нарушения ЦНС проявляются в виде тревожности, бессонницы, галлюцинаций, депрессии, паранойи, дезориентации. Периферическая невропатия вызывает боль и слабость и может прогрессировать до тетрапареза и затруднения дыхания [7–10]. К факторам, провоцирующим развитие приступа, относятся лекарственные препараты (барбитураты, антиконвульсанты, рифампицин и сульфаниламидные антибиотики), лютеальная фаза менструального цикла, гормональные контрацептивы, голодание и низкокалорийная диета, алкоголь, стресс, инфекции и др. [8, 9, 11]. Все провоцирующие экзогенные и эндогенные факторы стимулируют экспрессию синтазы дельта-аминолевулиновой кислоты (ALAS1), стартового фермента цикла биосинтеза гема [2, 4].

ОПП имеет доминантный тип наследования, и почти все больные являются гетерозиготными носителями патогенного варианта в гене *HMBs*. Этот ген расположен на хромосоме 11 (11q24.1–24.2) и имеет длину около 10 000 п. н., из которых 1300 п. н. представляют собой кодирующую часть, состоящую из 15 экзонов. Белок HMBs имеет две изоформы, одна экспрессируется только в эритроидных клетках, а другая повсеместно [12]. Эти изоформы кодируются двумя независимыми мРНК, транскрибируемыми с разных промоторов одного гена. В настоящее время в разных странах зафиксировано свыше 400 мутаций в гене *HMBs* [13, 14] (база данных HGMD: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>).

Однако далеко не все носители патогенных вариантов в этом гене имеют клинические проявления заболевания. В большинстве стран пенетрантность составляет 10–20 % [8, 13, 15]. В ходе наших многолетних исследований и в работах зарубежных лабораторий [13, 14, 17, 18] ассоциации между типом мутации в гене *HMBs* и проявлением заболевания выявлено не было. Высказывалось предположение о том, что пенетрантность ОПП может определяться сочетанием патологической мутации в одном из аллелей гена *HMBs* с гипоморфным аллелем (аллелем) дикого типа этого гена со сниженной экспрессией фермента [19]. Такая взаимосвязь была выявлена для эритропоэтической протопорфирии, при которой найдена очевидная корреляция между клиническим фенотипом и сочетанием мутантного и слабоэкспрессирующегося аллелей гена феррохелатазы. Аллель «дикого типа» со сниженной экспрессией был найден также для копропорфириногеноксидазы. Однако авторы данного исследования не нашли подобной связи для ОПП [19]. В настоящей работе, в которой была определена полная первичная структура гена *HMBs* для двух больных ОПП, также не было найдено гипоморфных аллельных вариантов, сочетание которых с мутантным аллелем могло бы определять клинические проявления заболевания [17]. Таким образом, более вероятной выглядит гипотеза о существовании дополнительных генетических детерминант пенетрантности ОПП [13, 14, 16, 17]. О наличии генетической предрасположенности к клиническому проявлению ОПП свидетельствует схожесть картины заболевания (возраст при первой манифестации, периодичность и тяжесть приступов, симптоматика) у женщин-близнецов [18].

В нашем предыдущем исследовании [20] были выборочно изучены гены различных метаболических и регуляторных систем (всего 24 гена, в том числе гены систем детоксикации), нарушения в которых могут приводить к клиническому проявлению ОПП. Работа была основана на поиске различий в частотах встречаемости полиморфных аллельных вариантов этих генов в группах больных и бессимптомных носителей. Предположительная ассоциация с клиническим проявлением заболевания была показана только для глутатионтрансфераз (GSTT, GSTM), сочетание гомозиготности по нулевым делеционным вариантам которых выявлялось только у больных и ни разу не встретилось у пожилых бессимптомных носителей мутации в гене *HMBs* [20].

Целью данного исследования был поиск дополнительных генетических факторов, предопределяющих клиническую пенетрантность ОПП, с использованием современной технологии высокопроизводительного секвенирования (next-generation sequencing, NGS).

Материалы и методы

Данная работа является пилотным исследованием, так как для изучения молекулярно-генетических основ порфирий технология NGS до сих пор не применялась.

Больные

Для проведения секвенирования полного экзона (Whole Exome Sequencing, WES) были отобраны образцы ДНК 6 женщин, больных ОПП, с известными мутациями в гене *HMBS*, у которых заболевание протекало в тяжелой форме с неоднократными приступами. От всех больных получено добровольное информированное согласие на обработку и публикацию данных молекулярно-генетического исследования на условиях анонимности. Научная тема, в рамках которой проводилась данная работа, одобрена локальным этическим комитетом ФГБУ НМИЦ гематологии Минздрава России.

Выделение ДНК и установление мутаций в гене *HMBS*

ДНК выделяли из ядерных клеток периферической крови после селективного лизиса эритроцитов в 0,8 % растворе хлорида аммония по стандартной методике, включающей обработку додецилсульфатом натрия (0,5 %) и протеиназой К (200 мкг/мл) в течение ночи при 37 °С или 2 часов при 65 °С с последующей фенол-хлороформной экстракцией.

Концентрацию выделенной ДНК определяли на спектрофотометре Ultrospec 3000 (Pharmacia Biotech), чистоту контролировали по отношению поглощения света 260/280 нм. ДНК всех выбранных для исследования больных подходила по качеству для NGS.

Ранее для всех исследуемых больных амплифицировали и секвенировали по методу Сэнгера все функционально значимые участки гена *HMBS*: 5'-UTR, 3'-UTR, 15 экзонов с прилегающими достаточно протяженными интронными участками. У каждой больной были выявлены следующие патогенные варианты (нумерация аминокислот начинается со стартового кодона (+1 позиция), в качестве референсной последовательности использованы NG_008093.1 для геномных позиций и NP_000181.2 для нумерации кДНК):

- Пп442: c.53delT (p.Met18Argfs*3);
- Пп530: c.575G>A (p.Gly192Asp) (SIFT: 0,912 D; PolyPhen-2: 0,899 D; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,931 D);
- Пп533: c.652G>T (p.Gly218Trp) (SIFT: 0,912 D; PolyPhen-2: 0,899 D; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,728 D);
- Пп537: c.731T>C (p.Leu244Pro) (SIFT: 0,142 T; PolyPhen-2: 0,116 B; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,506 N);
- Пп570: c.436_437AG>CC (p.Ser146Pro) (SIFT: 0,912 D; PolyPhen-2: 0,899 D; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,8 D);
- Пп597: c.448C>T (p.Arg149X).

Используемая номенклатура генетических вариантов соответствует рекомендациям HGVS вер. 15.11 (<http://varnomen.hgvs.org/>).

Полноэкзомное секвенирование (whole exome sequencing — WES) и биоинформатическая обработка

Полный экзом секвенировали в лаборатории российской инновационной биотехнологической компании «Евроген» (Москва) с набором TruSeq Exome Library Prep kit (Illumina) на приборе Illumina HiSeq4000 с длиной прочтения 2x75 пн. В результате мы получили 777 млн прочтений отличного качества. Более 99 % прочтений прошли фильтрацию по качеству, длине и были использованы в работе (от 104 млн до 144 млн для каждого образца).

В качестве референсного использовали версию генома человека hg19. Картирование прочтений проводилось в программе bwa mem, эффективность картирования была более 99 %. Варианты, отличающиеся от референсного, детектировались с помощью программы GATK для каждого образца отдельно с перекалибровкой на известные варианты базы dbSNP138_hg19. Весь полученный массив данных был использован для дальнейшей биоинформатической обработки.

Первая часть анализа была основана на функциональном подходе, при котором выполнена попытка выявить для больных с манифестировавшим заболеванием общие функциональные полиморфизмы в генах, продукты экспрессии которых участвуют в метаболизме гема или в регуляции этого процесса.

Во второй части исследования был проведен поиск патогенных вариантов. При этом учитывали только генетические варианты, не зарегистрированные в базах данных SNP. Среди вариаций учитывали stopgain, frameshift, 5-UTR (ближняя область до позиции около -200), nonframe, нарушение сплайсинга и несинонимичные замены. Из несинонимичных замен оставили только те, которые идентифицировались как патогенные четырьмя программами анализа белковых структур, наиболее часто используемыми для характеристики влияния генных дефектов (SIFT [21], PolyPhen-2 [22], MutationTaster [23], Provean [24]). Оставшиеся после такой фильтрации варианты с наибольшей вероятностью могут рассматриваться как патогенные варианты. На последнем этапе анализа к найденным патогенным вариантам добавили SNP в тех же генах, зарегистрированных в базах данных, но с очень низкой частотой встречаемости.

Результаты

В среднем для каждой из 6 больных ОПП было получено около 37 000 различных вариантов, отличающихся от референсной геномной последовательности.

В первую очередь рассмотрели вариации в генах, которые на основании функций кодируемых ими

Таблица 1. Функциональные полиморфизмы, выявленные у больных ОПП, и их частота встречаемости (f) в мировой популяции
Table 1. Functional polymorphisms, detected in API patients, and their occurrence frequency (f) in the global population

Ген Gene	Генный вариант Gene variant	rs	f	Пп442 Pp442	Пп530 Pp530	Пп533 Pp533	Пп537 Pp537	Пп570 Pp570	Пп597 Pp597
LONP1	NM_001276480:c.G134A:p.Arg-45Gln	11085147	0,06	V/N	V/N	V/N	N/N	N/N	N/N
	NM_001276480:c.G2143A:p.Val715Ile	1062373	0,02	N/N	N/N	N/N	V/N	N/N	N/N
HNF4G	NM_004133:c.G86A:p.Ser29Asn	2943549	0,44	V/N	V/N	V/V	V/N	N/N	V/V
	NM_004133:c.G681A:p.Met227Ile	1805098	0,44	V/N	V/N	V/V	V/N	N/N	V/V
HNF4A	NM_000457:c.G505A:p.Val169Ile	142204928	0,002	N/N	N/N	V/N	N/N	N/N	N/N
PPARGC1A	NM_013261:c.G1444A:p.Gly482Ser	8192678	0,43	V/N	V/N	N/N	V/N	N/N	V/N
CYP1B1	NM_000104:c.G1294C:p.Val432Leu	1056836	0,4	V/V	V/N	V/V	V/V	V/V	V/N
CYP2B6	NM_000767:c.G516T:p.Gln172His	3745274	0,27	V/N	V/V	V/N	N/N	N/N	N/N
CYP2C9	NM_000771:c.A1075C:p.Ile359Leu	1057910	0,06	V/N	N/N	N/N	N/N	V/N	V/N
CYP2D6	NM_000106:c.C100T:p.Pro34Ser	1065852	0,2	N/N	V/N	N/N	N/N	N/N	N/N
CYP2D6	NM_001025161:c.C1304G:p.Thr435Ser	1135840	0,4	N/N	V/N	V/N	V/N	V/N	V/N
CYP2D6	NM_001025161:c.T733C:p.Cys245Arg	16947	0,3	N/N	V/N	V/N	V/N	V/N	V/N
CYP4F2	NM_001082:c.G1297A:p.Val-433Met	2108622	0,3	V/V	V/N	N/N	N/N	V/N	N/N
CYP4F11	NM_021187:c.*4T>C	1060467	0,3	N/N	N/N	V/N	N/N	N/N	V/N

Примечание. V — генный вариант, N — норма (референсный геном человека hg19), V/N — гетерозигота по варианту, V/V — гомозигота по варианту, N/N — гомозигота по норме.

Note. V — gene variant, N — norm (reference human genome hg19), V/N — variant heterozygote, V/V — variant homozygote, N/N — normal homozygote.

белков были выбраны в качестве кандидатных и частично исследовались ранее, но только точно по отдельным полиморфизмам. На наличие мутаций или редких полиморфных вариаций были проанализированы гены, относящиеся к системам детоксикации, регуляции каскада биосинтеза гема и экспрессии *ALAS1*. Ни в одном из генов не выявлено вариаций, которые можно было бы с большой вероятностью отнести к мутациям, но для ряда генов у двух и более больных были найдены достаточно редкие функциональные (гипоморфные) аллельные варианты (табл. 1).

Полноэкзомное секвенирование выявило у каждой больной около 275–309 (в среднем 290) генных вариантов, не зарегистрированных в базах данных SNP. У каждой больной эти варианты приходились на 177–227 (в среднем на 200) различных генов, в сумме в общей выборке генные дефекты такого типа были найдены в 970 генах.

Полученные после жесткой фильтрации генные варианты (не зарегистрированные в базах данных по SNP и определяемые протеомными программами как патогенные) приведены в таблице 2. Следует учи-

тывать, что результаты, получаемые при помощи этих аналитических программ, достаточно часто противоречат друг другу, что отмечалось и другими исследователями [25–27]. Например, в таблицу вошли только 5 из 6 вариантов в гене *HMB*, найденных ранее с использованием секвенирования по методу Сэнгера. Мутация c.731T>C (p.Leu244Pro) (Пп537) признана патогенной только программой MutationTaster, хотя у данной больной она была единственным отличием от референсной последовательности.

Для оставшихся после жесткой фильтрации вариантов был проведен функциональный анализ (табл. 2), который начали с генов, вариации которых встретились у нескольких больных. Далее оценивали возможную причастность к клиническому проявлению ОПП дефектов в остальных генах, основываясь на известных функциях кодируемых ими белков и характере связанных с ними наследственных патологий. У 4 больных была найдена одна и та же инсерция — NM_001007026:c.1461_1462insCAG:p.Gln487delinsGlnGln в гене атрофина 1 (*ATN1*). Патогенные нарушения в этом гене вызывают нейродегенеративное наследственное заболевание — дентато-

Таблица 2. Результаты фильтрации данных WES**Table 2.** WES data filtering results

Хромосома Chromosome	Пн442 Pp442	Пн530 Pp530	Пн533 Pp533	Пн537 Pp537	Пн570 Pp570	Пн597 Pp597
1	PTBP2	CCDC17	PRKCZ	PLEKHN1	CLCN6	GRHL3
	TOR3A	MIER1	POU3F1	CFAP57	HHAT	SHCBP1L
	RRP15	SPAG17		OTUD7B		PLEKHA6
	TMEM63A	LIN9		ARNT		LIN9
				ALDH9A1		
				CAMSAP2		
2	ADCY3	MSH6	LRP2	TMEM214	UGT1A4	ARL5A
	VIT	ALMS1*	HOXD4	ALMS1		COL4A3
	PNPT1	KCNIP3	ACSL3	TRABD2A		
	NCK2	PPIG	PASK	TMEM87B		
	CYP27C1					
	ZNF385B					
3	MST1	KIF9	FRMD4B			SLC38A3
	KIAA2018		VWA5B2			
			FAM131A			
4	UGT2A3	CPZ	DOK7**	TMEM33	MAN2B2	CWH43
		CPEB2	ABLIM2		NCAPG	FRG1
		SYNPO2			NOA1	
5	SREK1IP1	FBXO38	RANBP17			DNAH5
		LCP2				CDH12
						RUFY1
6	DCDC2	NQO2		ATXN1	ATXN1	HIST1H1A
	CDSN	ATXN1		HIST1H3J	MAPK13	SMLR1
	MTCH1	C6orf226		DNAH8	GPR6	SMOC2
		ADGB			IGF2R	TBP
					LPA	
7	SSPO	ZNF679	POR		UBE2D4	SLC13A1
		PTPRN2				
8			WRN	AP3M2		
			YTHDF3			
9	UBAP2	CNTLN	UNC13B	CORO2A	DNAJC25	
	OMD	MAMDC2	GSN	POMT1	CCDC183	
		SLC27A4				
10	AGAP6	FAM208B	UNC5B	ZEB1	CUBN	LOXL4
		P4HA1	NOLC1	AGAP6		
			PLEKHA1	C10orf12		
			TUBGCP2			
	CYP2R1	IFITM10	TM7SF2	OR10A3	ANO9	AP2A2
11	MS4A6A	DNHD1	ALG8		VPS51	GLYATL1
	HMBS	PHLDB1	HMBS		ALG8	HMBS
		HMBS	ACAD8		TRIM77	
					HMBS	
12	PWP1	ATN1	ATN1	WNK1	BCL2L14	ATN1
	TCHP	CELA1	ISCU	ATN1	PUS7L	ARNTL2
	CCDC60	ALDH1L2		FBXW8		SP1
	CAMKK2	EP400		B3GNT4		DIABLO
	NCOR2					LRCOL1
	EP400					

Продолжение таблицы 2 на с. 129

Продолжение таблицы 2

Хромосома Chromosome	Пп442 Pr442	Пп530 Pr530	Пп533 Pr533	Пп537 Pr537	Пп570 Pr570	Пп597 Pr597
13				KATNAL1	WASF3	
				MYCBP2	NUFIP1	
					PIBF1	
14	SNX6	SERPINA4		CFL2	PNN	CMA1
	EXOC5				SERPINA9	ALDH6A1
15	TTBK2	RYS3		NIPA2	GOLGA6L2	TRIM69
				TYRO3	HERC2	DNAJA4
					IGDCC4	WDR61
					THSD4	
					MEF2A	
16	TMEM170A	RPL3L	ABCC11	CETP		SSTR5
		NOXO1	MLKL	CDH3		PRSS41
		C16orf82				HSF4
		HSDL1				PRDM7
17	SMTNL2	B9D1	TMEM11	MPP2	KRTAP4-6	RAI1
	PELP1	MYADML2	EFCAB5			
	ABCC3		HNF1B			
	ACTG1		VEZF1			
	MYADML2					
18					SERPINB5	
19	DPP9-AS1	APBA3	MAST3	CREB3L3	PRDX2	STX10
		ANKLE1	ZNF792	CAPN12	MYO9B	RASAL3
		RNF225	NFKB1B	TTYH1	ZNF816	PHLDB3
			KLK8			POLD1
20	TUBB1	SLC24A3				CSE1L
						FAM65C
21		PCNT				C21orf91
22	LZTR1		MN1			HIRA
	MFNG					LOC391322
	APOBEC3D					MKL1
	TRMU					PANX2
X		TAF9B				SUPT20HL2
Всего Total	45	47	38	36	37	48

Примечание. Подчеркиванием отмечены гены, вариации в которых найдены у 2 и более больных.

Жирным шрифтом отмечены патогенные варианты генов, которые могут быть связаны с клиническим проявлением ОПП.

Note. Underline denotes genes with variations found in 2 or more patients.

Pathogenic gene variants, which can be associated with the clinical manifestation of AIP are marked in bold.

рубро-паллидолюисову атрофию, ассоциированную с экспансией CAG-повтора в гене *ATNI* и симптоматически отчасти сходную с ОПП (полинейропатия, выражающаяся в спинально-мышечной атаксии, эпилепсии, деменции) [28, 29]. Патология проявляется при увеличении числа триплетов CAG до 49–88 при норме в менее чем 36. Наблюдающееся в данном исследовании отличие от референсной последовательности всего на один мотив CAG свидетельствует о том, что в данном случае имеет место не мутация, а обычный полиморфизм. Такой же вывод можно сделать на основании анализа вариации NM_001128164:

c.626_627insGCA:p.His209delinsGlnHis (CAG) в гене *ATXN1* (атаксин 1), встретившуюся у 3 больных, дефекты которого приводят к аутосомной доминантной церебральной атаксии [30]. Среди генов, вариации которых обнаружены у 2 больных (*LIN9*, *ALMS1*, *AGAP6*, *ALG8*, *MYADML2*), на основании анализа функций, кодируемых ими белков и ассоциации с наследственными патологиями только ген альфа-1,3-глюкозилтрансферазы (*ALG8*), участвующей в гликозилировании белков, с определенными оговорками, может рассматриваться как кандидатный, поскольку его дефекты также связаны с целым рядом нейродегенеративных

наследственных заболеваний, некоторые из которых по своей симптоматике отчасти сходны с ОПП [31].

Далее проанализировали вариации для всех известных на данный момент генов (31), нарушения в которых ассоциируются с развитием наследственного миастенического синдрома (НМС) [32], однако в большинстве этих генов отличий от референсного генома не было или же были отмечены часто встречающиеся в мировой популяции варианты. Выявленные в этих генах патогенные варианты приведены в таблице 3. В этой таблице приведены также данные по редким аллелям генов — регуляторов нервной системы, которые могут быть гипоморфными, т.е. иметь сниженную активность. В целом, патогенные варианты генов, нарушения в которых могут ассоциироваться с нейродегенеративными заболеваниями, обнаружены у 5 из 6 больных, а редкие гипоморфные аллели — у всех 6 больных.

Обсуждение

Функциональный анализ вариаций в генах, продукты которых участвуют в метаболизме гема

Клинические проявления ОПП обусловлены воздействием предшественников гема, которые накапливаются в организме и не успевают выводиться из него [7–10]. Это может быть связано с тем, что синтезируется слишком большое количество продукта на стадиях, предшествующих работе гидроксиметилбилан синтазы, то есть в результате чрезмерной активности синтазы или дегидратазы δ -аминолевулиновой кислоты, и/или происходят нарушения в процессе деградации гема. Показано, что экзогенные и эндогенные факторы, провоцирующие развитие острого приступа, стимулируют экспрессию *ALAS1* и *aroCYP*, являясь лигандами для целого ряда транскрипционных факторов и их медиаторов [2, 4, 33–38]. Неконтролируемая индукция *ALAS1* в сочетании с дефицитом ферментов последующих стадий биосинтеза гема может приводить к созданию избыточного пула токсичных порфириновых предшественников и клиническому проявлению заболевания. Таким образом, именно *ALAS1* является основной потенциальной мишенью, которую рассматривают в качестве провокатора манифестации ОПП и других острых порфирий. В связи с этим на первом этапе были проанализированы вариации в гене *ALAS1* и в генах, кодирующих другие ферменты биосинтеза гема (*ALAD*, *UROD*, *FECH*, *PPOX*, *CPOX*), а также ферменты, участвующие в деградации гема, к которым относятся *HMOX1* и *HMOX2*, кодирующие гемоксигеназы 1 и 2 [7], *LONP1*, *CLPX* и *CLPP*, кодирующие митохондриальные АТФ-зависимые протеазы [4, 39]. В ходе широкомасштабного анализа экспрессии генов были найдены еще 5 потенциальных участников биосинтеза

гема — три гена (*SLC25A39*, *SLC22A4* и *TMEM14C*), кодирующие предполагаемые митохондриальные транспортеры, и два гена (*Clorf69* и *ISCA1*), кодирующие белки Fe-S кластеров [36]. Эти гены также проверяли на наличие вариаций.

В гене *ALAS1* ни у одной из 6 больных ОПП не было выявлено вариаций. У одной из исследованных больных (Пп537) был выявлен вариант в гене *ALAD* (несинонимичная замена NM_000031:c.T574G:p.Ser192Ala, (SIFT: 0,022 T; PolyPhen-2: 0,208 B; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,249 N) в гетерозиготном состоянии. Такое двойное нарушение в цикле биосинтеза гема теоретически могло бы иметь прямо противоположные последствия. С одной стороны, дополнительный дефект во второй стадии цикла может в определенных условиях спровоцировать клиническое проявление ОПП, а с другой — наоборот, послужить защитным механизмом за счет снижения нагрузки на третью стадию цикла. У больной есть родные брат и сестра, оба старше 30 лет, также являющиеся носителями нарушений в генах *HMB* и *ALAD*, но у них никаких проявлений заболевания до сих пор не было, у самой же больной ОПП манифестировала в 21 год. Из чего следует, что дополнительное нарушение в гене *ALAD* вряд ли оказывает существенное влияние на пенетрантность ОПП.

Вариаций в генах *HMOX1* и *HMOX2*, а также в генах, кодирующих субъединицы ClpXP, ни у одной из 6 больных выявлено не было. Зато у трех из них (Пп442, Пп530 и Пп533) в гене *LONP1* была найдена редкая ($f' = 0,06$) несинонимичная замена rs11085147 (NM_001276480:c.G134A:p.Arg45Gln, табл. 1), и у одной (Пп537) — еще более редкая ($f' = 0,02$) замена rs1062373 (NM_001276480:c.G2143A:p.Val715Ile, табл. 1). Обе эти замены могли бы оказаться функциональными. Однако по результатам дальнейшего исследования на выборке еще из 20 больных ОПП редкий вариант rs11085147 был выявлен только у одного больного, то есть частота его встречаемости среди больных оказалась такой же, как и в мировой популяции. Вторым вариантом (rs1062373) в настоящее время исследуется.

В генах, кодирующих предполагаемые митохондриальные транспортеры (*SLC25A39*, *SLC22A4* и *TMEM14C*) и белки Fe-S кластеров (*Clorf69* и *ISCA1*), ни у одной больных функционально значимых замен не выявили.

Индукция *ALAS1* происходит в ответ на необходимость в геме для формирования гемопротейнов и, среди прочих, цитохромов P450 (CYPs), вовлеченных в первую и вторую фазы метаболизма ксенобиотиков, и опосредована несколькими транскрипционными факторами, которые активируются, связываясь с ксенобиотиками или гормональными стероидами [33, 35, 40–42]. У человека индуцированная ксенобиотиками транскрипционная активация генов *ALAS1* и *CYPs* при метаболизме более 50 % лекарств опосредована ядерными рецеп-

Таблица 3. Характеристика вариаций в генах, продукты которых участвуют в регуляции нервной системы и могут влиять на пенетрантность ОПП
Table 3. Characteristics of gene variations, which products are involved in the regulation of the nervous system and may affect the penetrance of AIP

Большая Patient	Ген Gene	Вариант Variant	SIFT	PolyPhen-2	MutationTaster	Provean
Патогенные варианты Pathogenic variants						
Пн597 Pp597	UNC13A	NM_001080421:c.C1375G: p.Arg459Gly	0,44 D*	0,335 B	0,358 D	0,559 D
Пн533 Pp533	DOK7	NM_001164673:c.C139T: p.Arg47Cys	0,784 D	0,899 D	0,422 D	0,941 D
Пн537 Pp537	AGRN	NM_198576:c.G3598A: p.Val1200Ile	0,092 T	0,373 P	0,322 D	0,084 N
Пн533 Pp533	SCN4A	NM_000334:c.C286T: p.Leu96Phe	0,784 D	0,564 D	0,317 N	0,611 D
Пн570 Pp570	ALG8	NM_001007027:c.350_351del: p.Phe117fs	N/A	N/A	N/A	N/A
Пн533 Pp533		NM_001007027:c.T199A: p.Tyr67Asn	0,912 D	0,899 D	0,81 D	0,98 D
Пн530 Pp530	FBXO38	NM_001271723:c.G2261A: p.Arg754His	0,912 D	0,899 D	0,81 D	0,745 D
SNP						
Пн570 Pp570	ALG8	rs61995925 (f = 0,02) NM_001007027:c.G803A: p.Arg268Gln	0,912 D	0,899 D	0,81 D	0,73 D
Пн537 Pp537	DOK7	rs62272670 (f = 0,004) NM_001164673:c.C134T: p.Ser45Leu	0,053 T	0,326 B	0,09 N	0,693 D
Пн570 Pp570		rs191800156 (f = 0,021) NM_173660:c.-6 C>G	N/A	N/A	N/A	N/A
Пн533 Pp533	CHAT	rs8178990 (f = 0,071) NM_001142929:c.C373T: p.Leu125Phe	0,721 D	0,742 P	0,468 D	0,663 D
Пн537 Pp537						
Пн442 Pp442	MYO9A	rs2306575 (f = 0,029) NM_006901:c.C5415G: p.His1805Gln	0,1 T	0,133 B	0,231 P	0,41 N
Пн530 Pp530		rs55738821 (f = 0,036) NM_006901:c.T4084C: p.Ser1362Pro	0,187 T	0,013 B	0,202 N	0,1 N
		rs148435644 (f = 0,03) NM_006901:c.C5912T: p.Ser1971Leu	0,12 T	0,013 B	0,09 N	0,02 N
Пн442 Pp442	COLQ	rs6782980 (f = 0,012) NM_080539:c.A832G: p.Ser278Gly	0,2 T	0,104 B	0,231 P	0,06 N
Пн597 Pp597		rs58156300 (f = 0,064) NM_080538:c.-54A>C	N/A	N/A	N/A	N/A
		rs73033051 (f = 0,063) NM_080539:c.-46G>A	N/A	N/A	N/A	N/A
Пн597 Pp597	LAMA5	rs79319629 (f = 0,03) NM_005560:c.A2435C: p.Lys812Thr	0,555 D	0,728 D	0,444 D	0,632 D
Пн533 Pp533		rs148169370 (f = 0,019) NM_005560:c.G7462A: p.Ala2488Thr	0,912 D	0,899 D	0,81 D	0,585 D
Пн570 Pp570		rs34000043 (f = 0,014) NM_005560:c.C5035T: p.Arg1679Trp	0,654 D	0,689 D	0,09 N	0,626 D
Пн533 Pp533	AGRN	rs143324306 (f = 0,004) NM_198576:c.G1993A: p.Glu665Lys	0,129 T	0,679 D	0,548 D	0,518 N
Пн533 Pp533		rs113288277 (f = 0,04) NM_198576:c.A2183T: p.Glu728Val	0,433D	0,754 D	0,81 D	0,721 D
Пн570 Pp570						
Пн442 Pp442	LRP4	rs118009068 (f = 0,023) NM_002334:c.C1117T: p.Arg373Trp	0,395 D	0,764 D	0,588 D	0,393 N

Примечание. Жирным шрифтом отмечены патогенные индексы протеомных программ.

Note. Pathogenic indices of the proteomic programs are marked in bold.

торами CAR (constitutively androstane receptor) и PXR (pregnane xenobiotic receptor). Медиаторами для PXR/CAR-индуцированной транскрипции *ALAS1* могут выступать отвечающий на сигналы гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы глюкокортикоидный рецептор (glucocorticoid receptor, GR), HNF4 (hepatocyte nuclear factor 4), инсулин-зависимый транскрипционный фактор FOXO (Forkhead box class O) и неинсулин-зависимый транскрипционный фактор PGC-1 α , активируемый глюкагоном [33]. Внешние и внутренние факторы, вызывающие приступы ОПП, могут запускать один из четырех описанных выше путей воздействия на *ALAS1* посредством активации системы CAR/PXR или несколько одновременно.

Все выявленные у больных замены в генах, кодирующих RXR (гены *RXRA*, *RXRB*, *RXRG*), FOXO1 (ген *FOXO1*), CAR (ген *NR1H3*), PXR (ген *NR1H2*), GR (ген *NR3C1*), NRF1 (ген *NRF1*), были интронными или синонимичными. У 5 больных в гене, кодирующем γ -субъединицу HNF4 (*HNF4G*), были выявлены две однонуклеотидные несинонимичные замены rs2943549 (NM_004133:c.G86A:p.Ser29Asn, табл. 1) и rs1805098 (NM_004133:c.G681A:p.Met227Ile, табл. 1), но они встречаются с частотой около 44 % и среди здоровой популяции и аналитическими программами как патогенные не определяются.

В гене, кодирующем α -субъединицу HNF4 (*HNF4A*), у больной (Пп533) был выявлен очень редкий ($f = 0,002$) вариант rs142204928 (NM_000457:c.G505A:p.Val169Ile, табл. 1), который может быть ассоциирован с сахарным диабетом 2-го типа. У 4 больных в гене, кодирующем PGC-1 α (*PPARGC1A*), был выявлен распространенный ($f = 0,43$) вариант rs8192678 (NM_013261:c.G1444A:p.Gly482Ser, табл. 1) являющийся, по всей вероятности, нейтральным.

ALAS1 также играет важную роль в биосинтезе стероидных гормонов, в частности, участвует в продукции прогестерона в стероидогенных клетках [38], что могло бы объяснять тот факт, что стресс, применение оральных контрацептивов и лютеальная фаза менструального цикла часто являются факторами, провоцирующими развитие приступа при острых порфириях. В стероидогенных тканях в регуляции *ALAS1* участвуют рецепторы SF-1 (orphan nuclear receptor steroidogenic factor 1) и LRH-1 (liver receptor homolog 1) [38]. Был проведен поиск вариаций в генах *NR5A1*, кодирующем SF-1, и *NR5A2*, кодирующем LRH-1, однако все они находились в интронных или межгенных областях.

Как отмечалось выше, экспрессия *ALAS1* тесно связана с работой цитохромов P450 (CYPs), вовлеченных в первую и вторую фазы метаболизма ксенобиотиков, в состав которых входит гем [33, 43, 44]. Нарушения экспрессии и активности этих белков могут приводить к менее эффективному метаболизму ксенобиотиков, что, в свою очередь, будет стимулировать экспрессию

ALAS1. Анализ генов, кодирующих CYPs у включенных в данное исследование больных, не выявил нарушений в одном из самых представленных в пуле печеночных гемопротеинов человека [43, 44] — *CYP3A4*, отвечающем за метаболизм более 60 % применяемых препаратов [45]. Однако среди других подтипов были выявлены однонуклеотидные замены, которые, возможно, являются функциональными. У всех 6 больных был выявлен часто встречающийся в европейской популяции ($f = 0,4$) вариант rs1056836 (NM_000104:c.G1294C:p.Val432Leu, табл. 1) в гене *CYP1B1*, кодирующем белок, отвечающий за метаболизм эйкозаноидов, эстрогена и чужеродных химических соединений [45], причем у 4 больных (Пп442, Пп533, Пп537, Пп570) он был выявлен в гомозиготном состоянии, что существенно превышает ожидаемую частоту подобного события. Ранее было показано, что данный аллель, особенно в гомозиготном состоянии, связан с меньшей восприимчивостью к ряду лекарственных препаратов [46]. В гене, кодирующем *CYP2B6*, который отвечает за метаболизм эйкозаноидов, лекарств и чужеродных химических соединений [45] и, в частности, участвует в метаболизме барбитуратов и взаимодействует с ядерными рецепторами CAR и PXR [47], у 3 больных (Пп442, Пп530, Пп533) был выявлен вариант rs3745274 (NM_000767:c.G516T:p.Gln172His, табл. 1). Он встречается с частотой 15–60 % в разных популяциях и связан со снижением экспрессии белка на 50–75 % [48–50]. У одной больной (Пп530) этот вариант был в гомозиготной форме. У 3 больных (Пп442, Пп570, Пп597) выявили вариант rs1057910 (NM_000771:c.A1075C:p.Ile359Leu, табл. 1) ($f = 0,06$) в гене, кодирующем *CYP2C9*, который отвечает за метаболизм эйкозаноидов, лекарств и чужеродных химических соединений [45, 49]. Его максимальная индукция требует задействования одновременно сайта связывания CAR/PXR и HNF4 α за счет участия мегакомплекса из кофакторов, связанных с HNF4 α , в том числе PGC-1 α , SRC-1 и NCOA6 [47, 51]. Выявленный вариант встречается в мировой популяции с частотой около 6 % и снижает активность белка до 70 % в зависимости от субстрата и ниже в случае гомозиготного состояния [47], однако среди обследованных больных он был только в гетерозиготном состоянии. Более того, на расширенной выборке больных ОПП было показано, что частота его встречаемости у них не отличается от таковой в общей популяции. Также были выявлены SNP в генах, кодирующих цитохромы *CYP2D6*, *CYP4F2* и *CYP4F11*, которые отвечают за метаболизм эйкозаноидов, лекарств и чужеродных химических соединений [45]. Все эти полиморфные варианты (rs1065852, rs1135840, rs16947, rs2108622 и rs1060467, табл. 1) встречаются в мировой популяции с частотой около 30 % и, возможно, связаны с пониженной чувствительностью к ряду лекарств [45, 47, 52].

Функциональный анализ вариаций в генах, продукты которых регулируют нервную систему

Анализ результатов жесткой фильтрации данных WES показал, что наиболее перспективными в плане влияния их аномальных вариантов на пенетрантность ОПП являются гены, продукты которых имеют отношение к регуляции нервной системы и нарушения в которых приводят к развитию заболеваний, по симптоматике отчасти схожих с ОПП. Среди генов, вариации в которых обнаружались у единичных больных, были выделены патогенные варианты в генах *AGRN* (NM_198576:c.G3598A:p.Val1200Ile), *DOK7* (NM_001164673:c.C139T:p.Arg47Cys) и *FBXO38* (NM_001271723:c.G2261A:p.Arg754His) (табл. 3). Ген *AGRN* кодирует один из белков, которые важны для нейромышечного синаптогенеза. Патогенные нарушения в нем вызывают наследственный НМС, ассоциированный с дефектами в большой группе генов, регулирующих нервную систему, и имеющий достаточно разнообразную симптоматику в зависимости от затронутого гена [32], в ряде случаев частично пересекаться с симптоматикой ОПП. Присутствие варианта p.Val1200Ile в этом гене у больной Пп537 было подтверждено секвенированием по Сэнгеру. Данный вариант можно считать условно патогенным, так как из 4 использованных протеомных аналитических программ только MutationTaster признает его собственным патогенным. Однако вариация p.Leu244Pro в гене *HMBS* у этой же больной тоже признается патогенной только программой MutationTaster, хотя других отличий от референсной последовательности нет, и, следовательно, именно она является причиной развития ОПП. Был проведен анализ найденной вариации в гене *AGRN* у родственников больной, являющихся носителями дефекта в гене *HMBS*. У самой больной диагностирована тяжелая форма заболевания с множественными приступами. У отца и родной сестры больной, также являющихся носителями этого варианта в гене *AGRN*, ранее наблюдались единичные кратковременные приступы, сопровождавшиеся абдоминальной болью и затруднением дыхания. У брата больной, не являющегося носителем патогенного варианта в гене *AGRN*, подобных отклонений от нормы никогда не наблюдалось. Ген *DOK7* кодирует белок, необходимый для нейромышечного синаптогенеза и постсинаптической дифференциации. Как и в случае гена *AGRN*, нарушения в нем вызывают НМС. Патогенные варианты в гене *FBXO38*, кодирующем один

из регуляторов роста и репарации аксонов, могут вызывать мышечную атрофию [53], однако они встречаются редко и в настоящее время их известно всего 5 (база данных HGMD).

В результате проведенного анализа мы выявили генные варианты в генах белков, регулирующих формирование и передачу нервных сигналов у 5 из 6 обследованных больных. В гене *DOK7*, кроме патогенного варианта Arg47Cys, о котором говорилось выше, выявлена замена rs62272670 (NM_001164673:c.C134T:p.Ser45Leu), зарегистрированная в базе данных HGMD (CM071708). В другом исследовании она была выявлена у больного НМС [54]. Еще одна редкая вариация rs191800156 (NM_173660:c.-6 C>G), возможно, ведет к уменьшению экспрессии белка за счет снижения активности промотора гена. Выявлены новые варианты в гене нейротрансммиттера *UNC13A*, генах *SCN4A* и *FBXO38*, идентифицируемые тремя-четырьмя использованными программами анализа белковых структур, как патогенные (табл. 3). Вариантам в гене *ALG8* дают статус патогенных все 4 использованные протеомные программы.

Таким образом, анализ данных WES для 6 больных тяжелой формой ОПП по генам, относящимся к системам детоксикации, регуляции каскада биосинтеза гема и экспрессии *ALAS1*, не выявил вариаций, которые можно было бы отнести к очевидно патогенным, но для ряда генов у двух и более больных были найдены достаточно редкие и предположительно функциональные аллельные варианты. Эти варианты требуют дальнейшего изучения на расширенных выборках больных с манифестацией ОПП и их родственников, являющихся бессимптомными носителями патогенных нарушений в гене *HMBS*.

Результаты проведенного анализа позволили нам также высказать гипотезу о возможной роли сочетания гетерозиготных мутаций в гене *HMBS* и одном из генов-регуляторов нервной системы в клиническом проявлении ОПП. Большинство наследственных нейропатий являются рецессивными заболеваниями, а все выявленные и приведенные вариации встретились в гетерозиготном состоянии. Данная гипотеза представляется правдоподобной, и на следующем этапе исследования предполагается уделить внимание ее проверке, начав с мутационного анализа при помощи секвенирования по методу Сэнгера генов *DOK7* и *SCN4A*, дефекты в которых найдены суммарно более чем у половины больных наследственным миастеническим синдромом.

Литература

1. Tsiftoglou A., Tsamadou A., Papadopoulou L. Heme as key regulator of major mammalian cellular functions: Molecular, cellular, and pharmacological aspects. *Pharmacology and Therapeutics*. 2006; 111: 327–45. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.10.017
2. Degenhardt T., Väisänen S., Rakhshandehroo M., et al. Peroxisome proliferator-activated receptor α controls hepatic heme biosynthesis through ALAS1. *J. Mol. Biol.* 2009; 388: 225–38. DOI: 10.1016/j.jmb.2009.03.024
3. Layer G., Reichelt J., Jahn D., Heinz D.W. Structure and function of enzymes in heme biosynthesis. *Protein Science*. 2010; 19: 1137–61. DOI: 10.1002/pro.405
4. Kubota Y., Nomura K., Katoh Y., et al. Novel mechanisms for heme-dependent degradation of ALAS1 protein as a component of negative feedback regulation of heme biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 2016; 291: 20516–29. DOI: 10.1074/jbc.M116.719161
5. Lim H.W., Murphy G.M. The porphyrias. *Clin. In Dermatol.* 1996; 14: 375–87.
6. Shoolingin-Jordan P.M. Structure and mechanism of enzymes involved in the assembly of the tetrapyrrole macrocycle. *Biochem. Soc. Trans.* 1998; 26: 326–36.
7. Karim Z., Lyoumi S., Nicolas G., et al. Porphyrias: A 2015 update. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2015; 39(4): 412–25. DOI: 10.1016/j.clinre.2015.05.009
8. Stein P.E., Badminton M.N., Rees D.C. Update review of the acute porphyrias. *Br. J. Haematol.* 2017; 176(4): 527–38. DOI: 10.1111 / bjh.14459
9. Ramanujam V.-M.S., Anderson K.E. Porphyria Diagnostics — Part 1: A brief overview of the porphyrias. *Curr. Protoc. Hum. Genet.* 2015; 86: 17.20.1–26. DOI: 10.1002 / 0471142905.hg1720s86
10. Bissell D.M., Anderson K.E., Bonkovsky H.L. Porphyria. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(9): 862–72. DOI: 10.1056/NEJMra1608634
11. Elder G.H., Hift R.J., Meissner P.N. The acute porphyrias. *Lancet.* 1997; 349: 1613–7.
12. Grandchamp B., De Verneuil H., Beaumont C., et al. Tissue-specific expression of porphobilinogen deaminase. Two isoenzymes from a single gene. *Eur. J. Biochem.* 1987; 162(1): 105–10.
13. Chen B., Solis-Villa C., Hakenberg J., et al. Acute Intermittent Porphyria: predicted pathogenicity of HMBS variants indicates extremely low penetrance of the autosomal dominant disease. *Hum. Mutat.* 2016; 37(11): 1215–22. DOI: 10.1002/humu.23067
14. Lenglet H., Schmitt C., Grange T., et al. From a dominant to an oligogenic model of inheritance with environmental modifiers in Acute Intermittent Porphyria. *Hum. Mol. Genet.* 2018; 27(7): 1164–73. DOI: 10.1093 / hmg / ddy030
15. Puy H., Gouya L., Deybach J.-C. Porphyrias. *Lancet.* 2010; 375: 924–37. DOI: 10.1016 / S0140-6736 (09) 61925-5
16. Yang C.-C., Kuo H.-C., You H.-L., et al. HMBS mutations in Chinese patients with acute intermittent porphyria. *Ann. Hum. Genet.* 2008; 72: 683–6. DOI: 10.1111 / j.1469-1809.2008.00463.x
17. Сурин В. Л., Лучинина Ю. А., Селиванова Д. С. и др. Молекулярно-генетическое исследование острой перемежающейся порфирии в России: мутационный анализ и поиск функциональных полиморфизмов в гене порфобилиногендеаминазы. *Генетика*. 2010; 46(4): 1–13.
18. Пустовойт Я.С., Сурин В.Л., Карпова И.В. и др. Острая перемежающаяся порфирия в России: аспекты диагностики. *Мед. генетика*. 2004; 3(1): 18–35.
19. Gouya L., Puy H., Robreau A.-M., et al. Modulation of penetrance by the wild-type allele in dominantly inherited erythropoietic protoporphyria and acute hepatic porphyrias. *Hum. Genet.* 2004; 114: 256–62. DOI: 10.1007/s00439-003-1059-5
20. Лучинина Ю.А., Гончарова М.В., Сурин В.Л. и др. Ассоциация аллельных вариантов генов системы детоксикации с клиническим проявлением острой

References

1. Tsiftoglou A., Tsamadou A., Papadopoulou L. Heme as key regulator of major mammalian cellular functions: Molecular, cellular, and pharmacological aspects. *Pharmacology and Therapeutics*. 2006; 111: 327–45. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.10.017
2. Degenhardt T., Väisänen S., Rakhshandehroo M., et al. Peroxisome proliferator-activated receptor α controls hepatic heme biosynthesis through ALAS1. *J. Mol. Biol.* 2009; 388: 225–38. DOI: 10.1016/j.jmb.2009.03.024
3. Layer G., Reichelt J., Jahn D., Heinz D.W. Structure and function of enzymes in heme biosynthesis. *Protein Science*. 2010; 19: 1137–61. DOI: 10.1002/pro.405
4. Kubota Y., Nomura K., Katoh Y., et al. Novel mechanisms for heme-dependent degradation of ALAS1 protein as a component of negative feedback regulation of heme biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 2016; 291: 20516–29. DOI: 10.1074/jbc.M116.719161
5. Lim H.W., Murphy G.M. The porphyrias. *Clin. In Dermatol.* 1996; 14: 375–87.
6. Shoolingin-Jordan P.M. Structure and mechanism of enzymes involved in the assembly of the tetrapyrrole macrocycle. *Biochem. Soc. Trans.* 1998; 26: 326–36.
7. Karim Z., Lyoumi S., Nicolas G., et al. Porphyrias: A 2015 update. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2015; 39(4): 412–25. DOI: 10.1016/j.clinre.2015.05.009
8. Stein P.E., Badminton M.N., Rees D.C. Update review of the acute porphyrias. *Br. J. Haematol.* 2017; 176(4): 527–38. DOI: 10.1111 / bjh.14459
9. Ramanujam V.-M.S., Anderson K.E. Porphyria Diagnostics — Part 1: A brief overview of the porphyrias. *Curr. Protoc. Hum. Genet.* 2015; 86: 17.20.1–26. DOI: 10.1002 / 0471142905.hg1720s86
10. Bissell D.M., Anderson K.E., Bonkovsky H.L. Porphyria. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(9): 862–72. DOI: 10.1056/NEJMra1608634
11. Elder G.H., Hift R.J., Meissner P.N. The acute porphyrias. *Lancet.* 1997; 349: 1613–7.
12. Grandchamp B., De Verneuil H., Beaumont C., et al. Tissue-specific expression of porphobilinogen deaminase. Two isoenzymes from a single gene. *Eur. J. Biochem.* 1987; 162(1): 105–10.
13. Chen B., Solis-Villa C., Hakenberg J., et al. Acute Intermittent Porphyria: predicted pathogenicity of HMBS variants indicates extremely low penetrance of the autosomal dominant disease. *Hum. Mutat.* 2016; 37(11): 1215–22. DOI: 10.1002/humu.23067
14. Lenglet H., Schmitt C., Grange T., et al. From a dominant to an oligogenic model of inheritance with environmental modifiers in Acute Intermittent Porphyria. *Hum. Mol. Genet.* 2018; 27(7): 1164–73. DOI: 10.1093 / hmg / ddy030
15. Puy H., Gouya L., Deybach J.-C. Porphyrias. *Lancet.* 2010; 375: 924–37. DOI: 10.1016 / S0140-6736 (09) 61925-5
16. Yang C.-C., Kuo H.-C., You H.-L., et al. HMBS mutations in Chinese patients with acute intermittent porphyria. *Ann. Hum. Genet.* 2008; 72: 683–6. DOI: 10.1111 / j.1469-1809.2008.00463.x
17. Surin V. L., Luchinina YU. A., Selivanova D. S., et al. Molecular genetic study of acute intermittent porphyria in Russia: mutation analysis and functional polymorphism search in porphobilinogen deaminase gene. *Genetika*. 2010; 46(4): 1–13 (In Russian).
18. Pustovoyt Ya.S., Surin V.L., Karpova I.V., et al. Acute intermittent porphyria in Russia: diagnostics aspects. *Meditsinskaya genetika*. 2004; 3(1): 18–35 (In Russian).
19. Gouya L., Puy H., Robreau A.-M., et al. Modulation of penetrance by the wild-type allele in dominantly inherited erythropoietic protoporphyria and acute hepatic porphyrias. *Hum. Genet.* 2004; 114: 256–62. DOI: 10.1007/s00439-003-1059-5
20. Luchinina Yu.A., Goncharova M.V., Surin V.L., et al. Association of allelic variants of genes of detoxification system with clinical presentation of acute

- перемежающейся порфирии. Гематология и трансфузиология. 2016; 61(3): 156–60.
21. Kumar P., Henikoff S., Ng P.C. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nature Protocols*. 2009; 4(7): 1073–81. DOI: 10.1038/nprot.2009.86
22. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L., et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nature Methods*. 2010; 7(4): 248–9. DOI: 10.1038/nmeth0410-248
23. Schwarz J.M., Rödelberger C., Schuelke M., Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nature Methods*. 2010; 7(8): 575–6. DOI: 10.1038/nmeth0810-575
24. Choi Y., Sims G.E., Murphy S., et al. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS ONE*. 2012; 7(10): e46688. DOI: 10.1371/journal.pone.0046688
25. Thusberg J., Olatubosun A., Vihinen M. Performance of mutation pathogenicity prediction methods on missense variants. *Human Mutation*. 2011; 32(4): 358–68. DOI: 10.1002/humu.21445
26. Wu J., Jiang R. Prediction of deleterious nonsynonymous single-nucleotide polymorphism for human diseases. *The Scientific World Journal*. 2013; 2013: 10 pages. DOI: 10.1155/2013/675851
27. Dong C., Wei P., Jian X., et al. Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. *Human Molecular Genetics*. 2015; 24(8): 2125–37. DOI: 10.1093/hmg/ddu733
28. Kanazawa I. Molecular pathology of dentatorubral-pallidolysian atrophy. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1999; 354(1386): 1069–74.
29. Koide R., Kobayashi S., Shimohata T., et al. A neurological disease caused by an expanded CAG trinucleotide repeat in the TATA-binding protein gene: a new polyglutamine disease? *Hum. Mol. Genet.* 1999; 8(11): 2047–53.
30. Sánchez I., Balagué E., Matilla-Dueñas A. Ataxin-1 regulates the cerebellar bioenergetics proteome through the GSK3 β -mTOR pathway that is altered in Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1). *Hum. Mol. Genet.* 2016; 25(18): 4021–40. DOI: 10.1093/hmg/ddw242
31. Jones M.A., Rhodenizer D., da Silva C., et al. Molecular diagnostic testing for congenital disorders of glycosylation (CDG): detection rate for single gene testing and next generation sequencing panel testing. *Mol. Genet. Metab.* 2013; 110(1–2): 78–85. DOI: 10.1016/j.ymgme.2013.05.012
32. Rodríguez Cruz P.M., Palace J., Beeson D. The neuromuscular junction and wide heterogeneity of Congenital myasthenic syndromes. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(6): 1677. DOI: 10.3390/ijms19061677
33. Thunell S. (Far) Outside the box: genomic approach to acute porphyria. *Physiol. Res.* 2006; 55: 43–66.
34. Jover R., Hoffmann F., Scheffler-Koch V., Lindberg R.L.P. Limited heme synthesis in porphobilinogen deaminase-deficient mice impairs transcriptional activation of specific cytochrome P450 genes by phenobarbital. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 7128–37.
35. Podvinec M., Handschin C., Looser R., Meyer U.A. Identification of the xenosensors regulating human 5-aminolevulinic acid synthase. *PNAS*. 2004; 101(24): 9127–32. DOI: 10.1073/pnas.0401845101
36. Handschin C., Lin J., Rhee J., et al. Nutritional regulation of hepatic heme biosynthesis and porphyria through PGC-1 α . *Cell*. 2005; 122: 505–15. DOI: 10.1016/j.cell.2005.06.040
37. Nilsson R., Schultz I.J., Pierce E.L., et al. Discovery of genes essential for heme biosynthesis through large-scale gene expression analysis. *Cell Metab.* 2009; 10(2): 119–30. DOI: 10.1016/j.cmet.2009.06.012
38. Ju Y., Mizutani T., Imamichi Y., et al. Nuclear receptor 5A (NR5A) family regulates 5-aminolevulinic acid synthase 1 (ALAS1) gene expression in steroido-
- intermittent porphyria. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2016; 61(3): 156–60 (In Russian).
21. Kumar P., Henikoff S., Ng P.C. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nature Protocols*. 2009; 4(7): 1073–81. DOI: 10.1038/nprot.2009.86
22. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L., et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nature Methods*. 2010; 7(4): 248–9. DOI: 10.1038/nmeth0410-248
23. Schwarz J.M., Rödelberger C., Schuelke M., Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nature Methods*. 2010; 7(8): 575–6. DOI: 10.1038/nmeth0810-575
24. Choi Y., Sims G.E., Murphy S., et al. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS ONE*. 2012; 7(10): e46688. DOI: 10.1371/journal.pone.0046688
25. Thusberg J., Olatubosun A., Vihinen M. Performance of mutation pathogenicity prediction methods on missense variants. *Human Mutation*. 2011; 32(4): 358–68. DOI: 10.1002/humu.21445
26. Wu J., Jiang R. Prediction of deleterious nonsynonymous single-nucleotide polymorphism for human diseases. *The Scientific World Journal*. 2013; 2013: 10 pages. DOI: 10.1155/2013/675851
27. Dong C., Wei P., Jian X., et al. Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. *Human Molecular Genetics*. 2015; 24(8): 2125–37. DOI: 10.1093/hmg/ddu733
28. Kanazawa I. Molecular pathology of dentatorubral-pallidolysian atrophy. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1999; 354(1386): 1069–74.
29. Koide R., Kobayashi S., Shimohata T., et al. A neurological disease caused by an expanded CAG trinucleotide repeat in the TATA-binding protein gene: a new polyglutamine disease? *Hum. Mol. Genet.* 1999; 8(11): 2047–53.
30. Sánchez I., Balagué E., Matilla-Dueñas A. Ataxin-1 regulates the cerebellar bioenergetics proteome through the GSK3 β -mTOR pathway that is altered in Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1). *Hum. Mol. Genet.* 2016; 25(18): 4021–40. DOI: 10.1093/hmg/ddw242
31. Jones M.A., Rhodenizer D., da Silva C., et al. Molecular diagnostic testing for congenital disorders of glycosylation (CDG): detection rate for single gene testing and next generation sequencing panel testing. *Mol. Genet. Metab.* 2013; 110(1–2): 78–85. DOI: 10.1016/j.ymgme.2013.05.012
32. Rodríguez Cruz P.M., Palace J., Beeson D. The neuromuscular junction and wide heterogeneity of Congenital myasthenic syndromes. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(6): 1677. DOI: 10.3390/ijms19061677
33. Thunell S. (Far) Outside the box: genomic approach to acute porphyria. *Physiol. Res.* 2006; 55: 43–66.
34. Jover R., Hoffmann F., Scheffler-Koch V., Lindberg R.L.P. Limited heme synthesis in porphobilinogen deaminase-deficient mice impairs transcriptional activation of specific cytochrome P450 genes by phenobarbital. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 7128–37.
35. Podvinec M., Handschin C., Looser R., Meyer U.A. Identification of the xenosensors regulating human 5-aminolevulinic acid synthase. *PNAS*. 2004; 101(24): 9127–32. DOI: 10.1073/pnas.0401845101
36. Handschin C., Lin J., Rhee J., et al. Nutritional regulation of hepatic heme biosynthesis and porphyria through PGC-1 α . *Cell*. 2005; 122: 505–15. DOI: 10.1016/j.cell.2005.06.040
37. Nilsson R., Schultz I.J., Pierce E.L., et al. Discovery of genes essential for heme biosynthesis through large-scale gene expression analysis. *Cell Metab.* 2009; 10(2): 119–30. DOI: 10.1016/j.cmet.2009.06.012
38. Ju Y., Mizutani T., Imamichi Y., et al. Nuclear receptor 5A (NR5A) family regulates 5-aminolevulinic acid synthase 1 (ALAS1) gene expression in steroido-

roidogenic cells. *Endocrinology*. 2012; 153(11): 5522–34. DOI: 10.1210 / en.2012-1334

39. Tian Q., Li T., Hou W., Zheng J., et al. Lon peptidase 1 (LONP1)-dependent breakdown of mitochondrial 5-aminolevulinic acid synthase protein by heme in human liver cells. *J. Biol. Chem.* 2011; 286: 26424–30. DOI: 10.1074/jbc.M110.215772

40. Fraser D.J., Podvinec M., Kaufmann M.R., Meyer U.A. Drugs mediate the transcriptional activation of the 5-aminolevulinic acid synthase (ALAS1) gene via the chicken xenobiotic-sensing nuclear receptor (CXR). *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 34717–26. DOI: 10.1074/jbc.M204699200

41. Fraser D.J., Zumsteg A., Meyer U.A. Nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor activate a drug-responsive enhancer of the murine 5-aminolevulinic acid synthase gene. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 39392–401. DOI: 10.1074/jbc.M306148200

42. Sueyoshi T., Negishi M. Phenobarbital response elements of cytochrome p450 genes and nuclear receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2001; 41: 123–43.

43. Pelkonen O., Mäenpää J., Taavitsainen P., et al. Inhibition and induction of human cytochrome P450 (CYP) enzymes. *Xenobiotica*. 1998; 28(12): 1203–53.

44. Pelkonen O., Rautio A., Raunio H., Pasanen M. CYP2A6: a human coumarin 7-hydroxylase. *Toxicology*. 2000; 144: 139–47.

45. Nebert D.W., Wikvall K., Miller W.L. 2013 Human cytochromes P450 in health and disease. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2013; 368(1612): 20120431 DOI: 10.1098/rstb.2012.0431

46. Laroche-Clary A., Le Morvan V., Yamori T., Robert J. Cytochrome P450 1B1 gene polymorphisms as predictors of anticancer drug activity: studies with in vitro models. *Mol. Cancer Ther.* 2010; 9: 3315–21. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0673

47. Zanger U.M., Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & Therapeutics*. 2013; 138: 103–41.

48. Lang T., Klein K., Fischer J. et al. Extensive genetic polymorphism in the human CYP2B6 gene with impact on expression and function in human liver. *Pharmacogenetics*. 2001; 11: 399–415.

49. Lamba V., Lamba J., Yasuda K., et al. Hepatic CYP2B6 expression: gender and ethnic differences and relationship to CYP2B6 genotype and CAR (constitutive androstane receptor) expression. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003; 307: 906–22.

50. Desta Z., Saussele T., Ward B., et al. Impact of CYP2B6 polymorphism on hepatic efavirenz metabolism in vitro. *Pharmacogenomics*. 2007; 8: 547–58.

51. Jover R., Moya M., Gómez-Lechón M.J. Transcriptional regulation of cytochrome p450 genes by the nuclear receptor hepatocyte nuclear factor 4- α . *Curr. Drug Metab.* 2009; 10: 508–19. DOI: 10.2174/138920009788898000

52. López-García M.A., Fera-Romero I.A., Serrano H., et al. Influence of genetic variants of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 on antiepileptic drug metabolism in pediatric patients with refractory epilepsy. *Pharmacol. Rep.* 2017; 69(3): 504–11. DOI: 10.1016/j.pharep.2017.01.007

53. Sumner C.J., d'Ydewalle C., Wooley J., et al. A dominant mutation in FBXO38 causes distal spinal muscular atrophy with calf predominance. *Am J Hum Genet.* 2013; 93(5): 976–83. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.10.006

54. Müller J.S., Herczegfalvi A., Vilchez J.J., et al. Phenotypical spectrum of DOK7 mutations in congenital myasthenic syndromes. *Brain*. 2007; 130(Pt 6): 1497–506. DOI: 10.1093/brain/awm068

genic cells. *Endocrinology*. 2012; 153(11): 5522–34. DOI: 10.1210 / en.2012-1334

39. Tian Q., Li T., Hou W., Zheng J., et al. Lon peptidase 1 (LONP1)-dependent breakdown of mitochondrial 5-aminolevulinic acid synthase protein by heme in human liver cells. *J. Biol. Chem.* 2011; 286: 26424–30. DOI: 10.1074/jbc.M110.215772

40. Fraser D.J., Podvinec M., Kaufmann M.R., Meyer U.A. Drugs mediate the transcriptional activation of the 5-aminolevulinic acid synthase (ALAS1) gene via the chicken xenobiotic-sensing nuclear receptor (CXR). *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 34717–26. DOI: 10.1074/jbc.M204699200

41. Fraser D.J., Zumsteg A., Meyer U.A. Nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor activate a drug-responsive enhancer of the murine 5-aminolevulinic acid synthase gene. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 39392–401. DOI: 10.1074/jbc.M306148200

42. Sueyoshi T., Negishi M. Phenobarbital response elements of cytochrome p450 genes and nuclear receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2001; 41: 123–43.

43. Pelkonen O., Mäenpää J., Taavitsainen P., et al. Inhibition and induction of human cytochrome P450 (CYP) enzymes. *Xenobiotica*. 1998; 28(12): 1203–53.

44. Pelkonen O., Rautio A., Raunio H., Pasanen M. CYP2A6: a human coumarin 7-hydroxylase. *Toxicology*. 2000; 144: 139–47.

45. Nebert D.W., Wikvall K., Miller W.L. 2013 Human cytochromes P450 in health and disease. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2013; 368(1612): 20120431 DOI: 10.1098/rstb.2012.0431

46. Laroche-Clary A., Le Morvan V., Yamori T., Robert J. Cytochrome P450 1B1 gene polymorphisms as predictors of anticancer drug activity: studies with in vitro models. *Mol. Cancer Ther.* 2010; 9: 3315–21. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0673

47. Zanger U.M., Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & Therapeutics*. 2013; 138: 103–41.

48. Lang T., Klein K., Fischer J. et al. Extensive genetic polymorphism in the human CYP2B6 gene with impact on expression and function in human liver. *Pharmacogenetics*. 2001; 11: 399–415.

49. Lamba V., Lamba J., Yasuda K., et al. Hepatic CYP2B6 expression: gender and ethnic differences and relationship to CYP2B6 genotype and CAR (constitutive androstane receptor) expression. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003; 307: 906–22.

50. Desta Z., Saussele T., Ward B., et al. Impact of CYP2B6 polymorphism on hepatic efavirenz metabolism in vitro. *Pharmacogenomics*. 2007; 8: 547–58.

51. Jover R., Moya M., Gómez-Lechón M.J. Transcriptional regulation of cytochrome p450 genes by the nuclear receptor hepatocyte nuclear factor 4- α . *Curr. Drug Metab.* 2009; 10: 508–19. DOI: 10.2174/138920009788898000

52. López-García M.A., Fera-Romero I.A., Serrano H., et al. Influence of genetic variants of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 on antiepileptic drug metabolism in pediatric patients with refractory epilepsy. *Pharmacol. Rep.* 2017; 69(3): 504–11. DOI: 10.1016/j.pharep.2017.01.007

53. Sumner C.J., d'Ydewalle C., Wooley J., et al. A dominant mutation in FBXO38 causes distal spinal muscular atrophy with calf predominance. *Am J Hum Genet.* 2013; 93(5): 976–83. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.10.006

54. Müller J.S., Herczegfalvi A., Vilchez J.J., et al. Phenotypical spectrum of DOK7 mutations in congenital myasthenic syndromes. *Brain*. 2007; 130(Pt 6): 1497–506. DOI: 10.1093/brain/awm068

Информация об авторах

Пшеничникова Олеся Сергеевна*, ведущий специалист лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Гончарова Мария Владимировна, ведущий специалист лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: goncharova.maria.v@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1741-224X>

Пустовойт Ярослав Сергеевич, старший научный сотрудник отделения химиотерапии гематологических заболеваний и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: CHERV21@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1618-6981>

Карпова Ирина Владимировна, руководитель биохимической группы централизованной клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: karpova@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0924-2957>

Сури́н Вадим Леонидович, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: vadsurin@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 10.11.2018

Принята к печати: 14.05.2019

Information about the authors

Olesya S. Pshenichnikova*, Leading Specialist, Laboratory of Genetic Engineering, National Research Centre for Hematology,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Maria V. Goncharova, Leading Specialist, Laboratory of Genetic Engineering, National Research Centre for Hematology,
e-mail: goncharova.maria.v@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1741-224X>

Yaroslav S. Pustovoyt, Senior Researcher, Department of Chemotherapy of Hematological Diseases and Intensive Care, National Research Centre for Hematology,
e-mail: CHERV21@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1618-6981>

Irina V. Karpova, Head of the Biochemical Group, Central Clinical Diagnostic Laboratory, National Research Centre for Hematology,
e-mail: karpova@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0924-2957>

Vadim L. Surin, Senior Researcher, Laboratory of Genetic Engineering National Research Centre for Hematology,
e-mail: vadsurin@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

*** Corresponding author**

Received 10 Nov 2018

Accepted 14 May 2019

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЗИТРОННО-ЭМИССИОННОЙ ТОМОГРАФИИ / КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ОТВЕТА НА ХИМИОТЕРАПИЮ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ ЛИМФОБЛАСТНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ / ЛИМФОБЛАСТНЫМИ ЛИМФОМАМИ

Гаврилина О. А.^{*}, Троицкая В. В., Басхаева Г. А., Лукьянова И. А., Зарубина К. И., Паровичникова Е. Н.

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

РЕЗЮМЕ

Введение. В настоящее время не разработаны рекомендации по применению позитронно-эмиссионной томографии / компьютерной томографии (ПЭТ/КТ) для оценки ответа на химиотерапию у больных острыми лимфобластными лейкозами / лимфобластными лимфомами (ОЛЛ/ЛБЛ).

Цель исследования: изучить способность опухолевых клеток накапливать радиофармпрепарат при ПЭТ/КТ у больных ОЛЛ/ЛБЛ и оценить прогностическое значение результатов ПЭТ/КТ, выполненной после завершения консолидирующей терапии с/без трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток крови (ауто-ТГСК) у больных с Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ, которым проводилась терапия по протоколам Российской исследовательской группы ОЛЛ-2009/ОЛЛ-2016.

Материалы и методы. Выполнено ПЭТ/КТ у 3 больных различными вариантами впервые выявленного ОЛЛ до начала терапии и после окончания индукционной терапии. У 10 больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ выполнено ПЭТ исследование после окончания консолидации по протоколу ОЛЛ-2009/ОЛЛ-2016.

Результаты. Проанализированы результаты ПЭТ/КТ у 3 больных с различными вариантами впервые диагностированных ОЛЛ/ЛБЛ. У всех больных выявлена метаболическая активность ¹⁸F-ФДГ во всех морфологически и иммуногистохимически (иммунофенотипически) подтвержденных очагах поражения. Анализ результатов ПЭТ/КТ у 10 больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ после завершения консолидирующей терапии с/без ауто-ТГСК показал, что у всех достигнута ПЭТ-негативная ремиссия заболевания. При медиане наблюдения 20,5 месяцев (от 15 до 44 месяцев) только у одного из 10 больных через 10 месяцев после достижения ремиссии был установлен изолированный нейрорецидив. У остальных 9 больных при медиане безрецидивной выживаемости 19 месяцев (от 14 до 43 месяцев) сохраняется полная клинико-гематологическая ремиссия.

Заключение. Специфические медуллярные и экстрамедуллярные очаги поражения при ОЛЛ/ЛБЛ способны накапливать ¹⁸F-ФДГ при ПЭТ, что позволяет использовать метод для оценки полноты ремиссии при экстрамедуллярных очагах поражения. Не изучено значение ПЭТ/КТ при вовлечении центральной нервной системы.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, лимфобластная лимфома, позитронно-эмиссионная томография, взрослые

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Гаврилина О.А., Троицкая В.В., Басхаева Г.А., Лукьянова И.А., Зарубина К.И., Паровичникова Е.Н. Применение позитронно-эмиссионной томографии / компьютерной томографии для оценки ответа на химиотерапию у больных острыми лимфобластными лейкозами / лимфобластными лимфомами. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2): 138–149. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-138-149>

APPLICATION OF POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY / COMPUTER TOMOGRAPHY FOR EVALUATING THE RESPONSE TO CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA / LYMPHOBLASTIC LYMPHOMA

Gavrilina O. A.*, Troitskaya V. V., Baskhaeva G. A., Lukyanova I. A., Zarubina K. I., Parovichnikova E. N.

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

ABSTRACT

Introduction. No recommendations are currently available on the use of positron emission tomography / computer tomography (PET/CT) for evaluating the response to chemotherapy in patients with acute lymphoblastic leukaemia / lymphoblastic lymphoma (ALL/LBL).

Aim. The aim of this research was to study the ability of tumour cells to accumulate radiopharmaceuticals during PET/CT in patients with ALL/LBL, as well as to evaluate the prognostic value of PET/CT results performed after completion of consolidation therapy with/without autologous hematopoietic blood stem cell transplantation (auto-HSCT) in patients with Ph-negative ALL/LBL who underwent therapy according to the protocols of a Russian research group ALL-2009/ALL-2016.

Materials and methods. PET/CT was performed in 3 patients with various variants of a newly diagnosed ALL before the onset of therapy and after the completion of induction therapy. In 10 patients with Ph-negative ALL/LBL, a PET study was performed after consolidation had been completed according to the ALL-2009/ALL-2016 protocol.

Results. The results of PET/CT in 3 patients with different variants of newly detected ALL/LBL were analysed. All patients showed a metabolic activity of 18F-FDG in all morphologically and immunohistochemically (immunophenotypically) confirmed lesions. An analysis of the PET/CT results in 10 patients with Ph-negative ALL/LBL after completion of consolidation therapy with/without auto-HSCT showed that all patients had achieved a PET-negative disease remission. With a median follow-up of 20.5 months (from 15 to 44 months), only one out of 10 patients demonstrated isolated neurorecurrence 10 months after achieving remission. The remaining 9 patients, under a median relapse-free survival rate of 19 months (from 14 to 43 months), demonstrated complete clinical and hematological remission.

Conclusion. Specific medullary and extramedullary lesions in ALL/LBL are capable of accumulating 18F-FDG in PET, which allows the method under study to be used for evaluating the completeness of remission in extramedullary lesions. The prognostic feasibility of PET/CT under the involvement of the central nervous system remains to be studied.

Keywords: acute lymphoblastic leukaemia; lymphoblastic lymphoma; positron emission tomography; adults

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Gavrilina O.A., Troitskaya V.V., Baskhaeva G.A., Lukyanova I.A., Zarubina K.I., Parovichnikova E.N. Application of positron emission tomography / computer tomography for evaluating the response to chemotherapy in patients with acute lymphoblastic leukemia / lymphoblastic lymphoma. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2019; 64(2):138–149 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-138-149>

Введение

Лимфобластные лимфомы (ЛБЛ) являются редкими и агрессивно протекающими формами неходжкинских лимфом [1]. Субстрат опухоли представлен лимфобластами Т-клеточной или В-клеточной дифференцировки, в связи с этим в классификации опухолей гемопоэтической ткани

ВОЗ с 2008 г. эта группа заболеваний объединена с острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) [2]. Эти заболевания характеризуются экстрамедуллярным опухолевым ростом при отсутствии вовлечения костного мозга, или наличием бластных клеток в миелограмме менее 25 % [2].

Эпидемиологических данных о заболеваемости ЛБЛ нет, что, вероятнее всего, связано с редкостью данного заболевания. Среди неходжкинских лимфом ЛБЛ составляют лишь 1–2 % [2]. По данным популяционного регистра Швеции [3], с 2000 по 2009 г. было зарегистрировано лишь 39 новых случаев ЛБЛ. В отличие от ОЛЛ, при которых соотношение В-клеточных вариантов заболевания к Т-клеточным составляет 80 и 20 % соответственно, при ЛБЛ это соотношение является обратным. При этом отношение Т-ЛБЛ к В-ЛБЛ может достигать 9:1 [4]. ЛБЛ чаще диагностируются у детей подросткового возраста и молодых взрослых, причем чаще у мужчин, соотношение мужчин к женщинам составляет 2:1 [5].

Для ЛБЛ наиболее типичной локализацией опухолевого поражения являются органы средостения, вовлечение которых встречается при ЛБЛ в 75 % случаев. Также могут быть вовлечены лимфатические узлы всех локализаций, кожа, кости, центральная нервная система (ЦНС), почки, желудочно-кишечный тракт и яичники/яички [6].

Для диагностики первичной распространенности при ЛБЛ, так же как при других неходжкинских лимфомах, применяются такие методы диагностики, как исследование костного мозга, спинномозговой жидкости, компьютерная томография (КТ) головного мозга, органов грудной клетки и брюшной полости. Для уточнения поражения позвоночника, черепа, головного мозга или сердца применяется магнитно-резонансная томография (МРТ) [6]. В последние годы все большую распространенность приобретает такой метод диагностики, как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с 18-флуордезоксиглюкозой при ЛБЛ. ПЭТ/КТ — это радионуклидный томографический метод исследования, основанный на регистрации γ -квантов при аннигиляции (контакте позитрона радионуклида с электронами тканей человека). ПЭТ позволяет измерить выброс меченых метаболитически активных химических веществ, введенных в кровеносное русло. Позитронные бета-лучи, исходящие от введенного радиоизотопа, воздействуют на живые клетки, вызывая эмиссию (освобождение, испускание) электронов. Позитроны, взаимодействуя с освободившимися электронами, образуют пару, которая начинает продуцировать гамма-кванты в виде двух фотонов. Это излучение регистрируется высокочувствительным КТ сканером. Отсюда и название метода — позитронно-эмиссионная томография, двухфотонная томография. Суть использования данного метода в онкологии состоит в том, что опухолевые клетки в большей степени поглощают бета-лучи, значит эмиссия электронов идет активнее, больше образуется протонно-электронных пар, от них больше выделяется фотонов гамма-излучения. В результате в зоне опухоли свечение будет большей интенсивности, и она будет четко отображаться на снимке томографа [7]. ПЭТ дает возможность

не только выявить очаг и распространенность поражения при опухолях, но и с учетом разницы поглощения различными опухолями радиоизотопов можно судить об ее агрессивности. Таким образом, исследование ПЭТ/КТ позволяет за одно исследование максимально определить распространенность процесса и оценить агрессивность опухоли. Кроме того, исследование ПЭТ после лечения позволяет оценить полноту противоопухолевого ответа, что в настоящее время активно применяется при стадировании лимфомы Ходжкина и некоторых типов неходжкинских лимфом [8].

По данным современных рекомендаций [9], при диагностике ОЛЛ/ЛБЛ ПЭТ/КТ следует применять лишь при подозрении на распространенность процесса. Нет рекомендаций о применении ПЭТ/КТ для оценки результатов терапии ОЛЛ/ЛБЛ [9]. Для оценки ответа после химиотерапии применяют критерии В.Д. Cheson. и соавт. [10]. Согласно этим критериям, полная ремиссия может быть подтверждена у больных, у которых отмечается полная регрессия всех экстрамедуллярных поражений, или размеры остаточного образования исходно пораженных лимфатических узлов не превышают 1,5 см в диаметре, или отмечается сокращение размеров образования более чем на 75 % от исходного (табл. 1). В пересмотре критериев ответа при злокачественных лимфомах [10], выполненном в 2007 г., включаются результаты ПЭТ/КТ как критерии ответа на химиотерапию для тех больных, у которых ПЭТ/КТ была выполнена до начала терапии и отмечалось накопление радионуклидного фармпрепарата.

Таким образом, в настоящее время остается неясным, насколько пересмотренные с учетом результатов ПЭТ/КТ критерии В.Д. Cheson и соавт. [10] применимы для оценки результатов терапии у больных ЛБЛ. Целесообразность применения ПЭТ/КТ у этой категории больных определяется тем, насколько интенсивно опухолевые клетки ЛБЛ/ОЛЛ способны накапливать тот или иной радионуклидный фармпрепарат. Работ, в которых изучена активность накопления радионуклидных фармпрепаратов опухолевыми клетками ЛБЛ при ПЭТ/КТ исследовании, опубликовано немного. Крупных исследований с большой когортой таких больных нет, и, в основном, встречаются описания отдельных клинических случаев. Корейские авторы [11] опубликовали результаты исследования, в которое были включены с 2000 по 2009 г. 9 больных (8 мужчин, 1 женщина, медиана возраста $30 \pm 8,3$ года) с подтвержденным диагнозом Т-ЛБЛ. У 8 из 9 больных исходно было верифицировано вовлечение костного мозга. Медиана индекса пролиферативной активности, по данным иммуногистохимического исследования, в биоптате опухоли составила 55 % (колебался от 30 до 90 %). Всем больным до начала химиотерапии была выполнена с 18-флуордезоксиглюкозой (18F-ФДГ) ПЭТ/КТ, по данным которой у всех больных было вы-

Таблица 1. Критерии ответа для злокачественных лимфом (адаптировано из [10])
Table 1. Response criteria for malignant lymphoma (adapted from [10])

Полнота ответа Completeness of response	Определение Definition	Экстрамедуллярные очаги поражения Extramedullary lesions	Селезенка, печень Spleen, liver	Костный мозг Bone marrow
Полная ремиссия Complete remission	Отсутствие всех проявлений заболевания No disease manifestations	Нормализация размеров по данным КТ (менее 1,5 см в большем диаметре, если до терапии они были более 1,5 см) Size normalisation according to CT data (less than 1.5 cm in larger diameter, if they were more than 1.5 cm before therapy)	Не пальпируется, отсутствуют узлы Not palpable, missing nodes	Отсутствие инфильтрации или небольшая инфильтрация, но при ИГХ негативные клетки No infiltration, or slight infiltration, but negative cells during IHC
Частичная ремиссия Partial remission	Регрессия выявляемых признаков заболевания и отсутствие новых очагов поражения Regression of detected signs of the disease and the absence of new lesions	Сокращение более чем на 50 % площади образований, отсутствие увеличения образований Reduction of more than 50 % of the mass area, no increase in masses	Сокращение более чем на 50 % очагов (в наибольшем диаметре), отсутствие увеличения размеров печени и селезенки Reduction of more than 50 % of lesions (in the largest diameter), no increase in the liver and spleen size	Может определяться, если по другим критериям достигнута ПР Can be determined if CR is achieved according to the other criteria
Стабилизация заболевания Disease stabilisation	Отсутствие признаков ПР, ЧР или прогрессии заболевания No signs of CR, PR, or disease progression	Сохраняются очаги, выявленные до начала заболевания. Но отсутствуют новые очаги поражения Lesions remain identified before the beginning of the disease. No new lesions		
Прогрессия заболевания Disease progression	Появление новых очагов поражения или увеличение размеров выявленных ранее очагов поражения New lesion appearance or an increase in the size of previously detected lesions	Появление новых очагов поражения более 1,5 см, увеличение более чем на 50 % площади ранее выявленных очагов поражения The appearance of new lesions of more than 1.5 cm, an increase of more than 50 % in the area of previously identified lesions	Увеличение очагов более чем на 50 % An increase in lesions by more than 50 %	Появление признаков поражения при отсутствии поражения до терапии The appearance of signs of damage in the absence of damage before therapy

Сокращения: КТ — компьютерная томография, ИГХ — иммуногистохимическое исследование, ПР — полная ремиссия, ЧР — частичная ремиссия.
 Abbreviations: CT — computer tomography, IHC — immunohistochemical study, CR — complete remission, PR — partial remission.

явлено накопление фармпрепарата в подтвержденных другими методами исследования (патоморфологические исследования, ультразвуковые исследования (УЗИ), КТ) очагах поражения, в том числе в костном мозге. Однако интенсивность накопления отличалась. Суммарная интенсивность накопления (SUV) составила $6,4 \pm 3,3$ (3,7–12,2). Авторы [11] сделали заключение, что все очаги поражения при ЛБЛ/ОЛЛ могут накапливать 18-флуородезоксиглюкозу, и, таким образом, ПЭТ/КТ может быть использована для оценки ответа после терапии.

В настоящее время имеются 3 крупных исследования [12–14], в которых была оценена диагностическая и прогностическая значимость выполнения ПЭТ/КТ у больных ЛБЛ. Наиболее важное из них выполнено во Франции и Бельгии исследовательской группой

GRAALL-LYSA [12]. С 2004 по 2011 г. в исследование было включено 36 больных Т-ЛБЛ в возрасте от 18 до 59 лет. Одной из целей данного исследования являлась оценка прогностической значимости раннего ответа на терапию (после окончания индукционной химиотерапии), подтвержденного КТ и ПЭТ/КТ. Всем больным до начала терапии и после окончания индукции произведена 18F-ФДГ ПЭТ/КТ. У всех больных до начала терапии были выявлены ПЭТ-позитивные очаги поражения, однако интенсивность накопления фармпрепарата отличалась. Медиана суммарной интенсивности накопления фармпрепарата (SUV) до начала терапии составила 11,5 (4–29,95). После терапии медиана суммарной интенсивности накопления (SUV) была оценена у 27 больных, достигших полной ремиссии, и составила 1,99 (1–4,96). По окончании индукции

около 85 % больных имели ПЭТ-негативный статус и по шкале Deauville ≤ 3 [10].

Исследователями была проанализирована прогностическая значимость таких показателей, как максимальная интенсивность накопления фармпрепарата до начала терапии, разница между максимальной интенсивностью накопления исходно и после окончания индукционной терапии и ПЭТ-негативный статус согласно шкале оценки Deauville (1–3 против 4–5) [12]. Была продемонстрирована прогностическая значимость показателя суммарной интенсивности накопления до начала химиотерапии более 8,76. В группе больных с исходной SUV более 8,76 общая и бессобытийная выживаемость была лучше, чем в группе больных с SUV менее или равной 8,76 (80,4 против 31,6 % ($p = 0,013$) и 83,7 против 35 % ($p = 0,028$) соответственно). При этом ПЭТ-негативный статус после индукционной терапии, подтвержденный согласно шкале Deauville [10], не имел прогностической значимости для оценки 3-летней выживаемости (3-летняя общая и бессобытийная выживаемость составили 62,9 против 57,1 % ($p = 0,617$) и 67,9 против 83,3 % ($p = 0,582$) соответственно) [12].

Немецкой исследовательской группой GALL были представлены результаты [13] лечения 45 больных Т-ЛБЛ. Результаты терапии оценивали после окончания консолидации-I методом КТ, а больным, достигшим частичной или полной неподтвержденной ремиссии, выполняли ПЭТ. Было показано, что у всех больных с полной неподтвержденной ремиссией, по данным ПЭТ/КТ, не получено данных за наличие «активной» опухолевой ткани (21 больной), а у 10 из 22 больных с частичной ремиссией был подтвержден ПЭТ-позитивный статус. Таким образом, исследователями был сформулирован вывод о том, что при частичной ремиссии по данным КТ ПЭТ/КТ помогает выделить группу больных, нуждающихся в смене тактики терапии [13].

По результатам ретроспективного анализа Шведского регистра лимфом [14] было показано, что данные ПЭТ/КТ исследований у 39 больных, выполненных после окончания индукции ремиссии у больных Т-ЛБЛ, не имели прогностического значения. Кроме того, 7 (54 %) из 13 больных был констатирован рецидив заболевания, хотя после индукции у них была подтверждена ПЭТ-негативная ремиссия. Но при обсуждении полученных результатов исследователи предположили, что различные режимы химиотерапии, использованные у больных, стали более важным фактором прогноза, нежели результаты ПЭТ/КТ исследования [14].

Таким образом, в литературе мало исследований о значении ПЭТ/КТ в диагностике ЛБЛ и ОЛЛ с экстрамедуллярными поражениями, хотя эта проблема является актуальной. При ОЛЛ доказана прогностическая значимость исследований минимальной резидуальной болезни (МРБ) в костном мозге различными

исследовательскими группами [15–18]. Однако подобные исследования при экстрамедуллярных очагах поражения не разработаны к настоящему времени. Возможно, ПЭТ/КТ является более чувствительным методом подтверждения резидуальной опухолевой ткани в экстрамедуллярных очагах поражения, чем применяющиеся в настоящее время методы КТ, МРТ, УЗИ. В ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России выполнено пилотное исследование по изучению диагностической значимости ПЭТ/КТ в диагностике у больных с ЛБЛ и ОЛЛ.

Целью исследования было изучить способность опухолевыми клетками накапливать ^{18}F -ФДГ радиофармпрепарат (РФП) при ПЭТ/КТ у больных ОЛЛ/ЛБЛ и оценить прогностическую значимость результатов ПЭТ/КТ, выполненной после завершения консолидирующей терапии с/без трансплантации аутологичных стволовых клеток крови (ауто-ТГСК) у больных с Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ, которым проводилась терапия по протоколам «ОЛЛ-2009» / «ОЛЛ-2016».

Больные и методы

В первую часть исследования были включены 3 больных с различными типами ОЛЛ. Первый больной, мужчина 55 лет, которому был установлен диагноз «острый В-ОЛЛ (ВII, t(6;11))» в феврале 2017 г. Заболевание дебютировало с болей в пояснице и грудной клетке. Наблюдался у невролога, проводилась терапия нестероидными противовоспалительными препаратами без эффекта. В мае 2017 г. при МРТ позвоночника была выявлена патологическая инфильтрация всех грудных позвонков и ребер. По данным сцинтиграфии костей выявлена гиперфиксация радиофармпрепарата в черепе, позвонках, ребрах, ключицах, лопатках, тазовых и бедренных костях. Больной был направлен к онкологу с подозрением на первично метастатический рак. При обследовании в июне 2017 г. выполнена ПЭТ/КТ, при которой обнаружена специфическая инфильтрация практически всех костных структур, некоторые из них с очагами костной деструкции, с SUVmax 3,9. В миелограмме было выявлено 30 % бластных клеток, иммунофенотипически соответствовавших В-ОЛЛ (ВII с экспрессией CD56). При стандартном цитогенетическом исследовании (СЦИ) выявлена транслокация t(6;11). Больному в июне 2017 г. была начата химиотерапия согласно протоколу «ОЛЛ-2016».

Вторая больная, включенная в исследование — женщина 33 лет с подтвержденным диагнозом «Rh-позитивный В-ОЛЛ (ВII)». Заболевание у нее дебютировало в мае 2017 г. с оссалгического синдрома и повышения температуры тела до субфебрильных значений, по поводу чего наблюдалась у терапевта и невролога, проводилась терапия нестероидными противовоспалительными препаратами без эффекта. В октябре 2017 г. впервые были выявлены изменения в гемограмме: тромбоцитопения $80 \times 10^9/\text{л}$, нейтропения $2,3 \times 10^9/\text{л}$,

и больная была направлена на консультацию к гематологу. При обследовании в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России в миелограмме было выявлено 31,6 % бластных клеток, по данным иммунофенотипического исследования подтвержден ВП вариант ОЛЛ с коэкспрессией CD33+/CD13+. По данным СЦИ был получен нормальный кариотип 46XX [9]. Однако при исследовании *fluorescence in situ hybridization* (FISH) была выявлена t(9;22), и таким образом подтвержден Ph-позитивный вариант заболевания. По данным дополнительного обследования (УЗИ органов брюшной полости и периферических лимфатических узлов, КТ органов грудной клетки и головного мозга), экстрамедуллярных очагов поражения не выявлено. Больной выполнена ПЭТ/КТ. По данным ПЭТ/КТ отмечалось диффузное накопление радиофармпрепарата 18F-ФДГ всеми костными структурами с SUVmax 3,6, а экстрамедуллярные очаги поражения не выявлены. Больной в октябре 2017 г. была начата химиотерапия согласно протоколу «Ph+ ОЛЛ-2012m» [19].

Третья больная, включенная в исследование, — женщина 28 лет с диагностированным Т-ОЛЛ (ТIII, с реаранжировкой цепей альфа/дельта Т-клеточного рецептора). Заболевание дебютировало у нее в январе 2018 г. кашлем и увеличением шейных лимфатических узлов. Проводилась антибактериальная терапия без эффекта. Отмечалось дальнейшее увеличение лимфатических узлов, появились одышка и субфебрильная температура тела. В феврале 2018 г. при рентгенографии органов грудной клетки было выявлено объемное образование средостения, подтвержденное данными КТ органов грудной клетки, при которой выявлено объемное образование средостения до 15 см в диаметре, правосторонний гидроторакс, ограниченные пневмофиброзные изменения в правом легком. Больная была направлена на обследование в онкологический диспансер, где после выполнения биопсии надключичного лимфатического узла по данным гистологического и иммуногистохимического исследований была диагностирована Т-ЛБЛ, и больная была направлена в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, где при обследовании в марте 2018 г. в миелограмме было выявлено 70 % бластных клеток. По данным иммунофенотипирования, бластная популяция соответствовала ТIII ОЛЛ с коэкспрессией CD10+. При СЦИ в 77 % митозов выявлена транслокация TCR A/D/14q11 (из них 20 % с трисомией по локусу гена TCR A/D/14q11). При УЗИ обнаружена генерализованная лимфаденопатия, увеличение размеров яичников с двух сторон, что подтверждено данными МРТ, на основании чего заподозрено опухолевое вовлечение яичников. При ПЭТ/КТ исследовании была выявлена метаболическая активность в левых отделах ротоглотки, лимфоузлах шеи, в лимфоидном конгломерате в средостении, в аксиллярных лимфатических узлах справа, по ходу костальной плевры правого легкого, в обеих почках и обоих яич-

никах, в забрюшинных лимфатических узлах, а также обнаружена диффузная гиперфиксация 18F-ФДГ в костях на всем уровне исследования. SUVmax составила 3,7–6,27.

Для решения задач второй части цели исследования выполнен ретроспективный анализ результатов лечения больных ОЛЛ/ЛБЛ с вовлечением экстрамедуллярных очагов, которым по окончании консолидации ± ауто-ТГСК была выполнена ПЭТ/КТ. Всем больным была проведена терапия по протоколам Российской научно-исследовательской группы по изучению ОЛЛ «ОЛЛ-2009» или «ОЛЛ-2016» [19]. В исследование включены 10 больных: медиана возраста составила 28 лет (19–59 лет), 7 мужчин и 3 женщины, у 7 (70 %) больных был вариант ТIII ОЛЛ, у 1 (10 %) — ТII вариант, у 1 (10 %) — TIV вариант и 1 (10 %) — ВП вариант ОЛЛ. У 8 (80 %) больных диагностировано массивное поражение средостения исходно, у 1 больного — генерализованная лимфаденопатия и у 1 — вовлечение почек и яичников. ОЛЛ диагностирован у 4 (40 %) больных, остальные 6 больных, учитывая отсутствие вовлечения костного мозга, были расценены как ЛБЛ. Нейролейкемия исходно не была подтверждена ни у одного больного. У всех, кроме одного больного, отмечалось увеличение активности сывороточной лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в дебюте заболевания. У всех больных по окончании индукции ремиссии по протоколам «ОЛЛ-2009»/«ОЛЛ-2016» подтверждена клинико-гематологическая ремиссия согласно критериям полной ремиссии В.Д. Cheson и соавт. [10]. Ауто-ТГСК после консолидации по протоколам «ОЛЛ-2009»/«ОЛЛ-2016» выполнена 5 (50 %) больным. Основные клинико-лабораторные характеристики больных представлены в таблице 2.

Результаты

В первой части исследования у всех трех больных при ПЭТ/КТ выявлена метаболическая активность 18F-ФДГ во всех морфологически и иммуногистохимически (иммунофенотипически) подтвержденных очагах, что свидетельствует о возможности использовать ПЭТ/КТ в комплексе диагностических исследований при ОЛЛ/ЛБЛ. Кроме того, в третьем случае при помощи ПЭТ/КТ удалось выявить специфическое вовлечение яичников и почек. После обнаружения поражения при ПЭТ/КТ было выполнено УЗИ почек и яичников, при котором также подтверждено их опухолевое вовлечение. Ни у одного из этих больных не была диагностирована нейролейкемия, поэтому судить о показаниях ПЭТ/КТ в диагностике опухолевого поражения ЦНС нет возможности. Данные исследований представлены на рисунке 1.

Всем этим больным после окончания программы индукции ремиссии (70-й день по протоколу «ОЛЛ-2016» или «Ph+ОЛЛ-2012m») [19] было выполнено повторное ПЭТ/КТ исследование, по данным которого

Таблица 2. Клинико-лабораторная характеристика больных ОЛЛ/ЛБЛ с экстрамедуллярным вовлечением, которым выполнена ПЭТ/КТ после окончания консолидации по протоколам «ОЛЛ-2009»/«ОЛЛ-2016»**Table 2.** Clinical and laboratory characteristics of ALL/LBL patients with extramedullary involvement who underwent PET/CT after consolidation according to the ALL-2009/ALL-2016 protocols

Тип ОЛЛ/ ЛБЛ ALL/LBL type	Возраст Age	Пол Sex	Экстрамедуллярное поражение Extramedullary lesion	КМ BM	ЦНС CNS	ЛДГ LDH	Ауто-ТГСК Auto-TGSC	ПЭТ статус после консолидации PET status after consolidation	ЛТ RT	БРВ RFS
ТIII ЛБЛ TIII LBL	26	Ж F	Средостение Mediastinum	Нет No	Нет No	↑	Да Yes	Негативный negative	Да Yes	24+
ТII ОЛЛ TII ALL	20	М M	Средостение Mediastinum	Да Yes	Нет No	↑	Да Yes	Негативный negative	Нет No	23+
ТIII ЛБЛ TIII LBL	19	М M	Средостение Mediastinum	Нет No	Нет No	↑	Да Yes	Негативный negative	Да Yes	14+
ТIII ЛБЛ TIII LBL	29	Ж F	Средостение Mediastinum	Нет No	Нет No	↑	Да Yes	Негативный negative	Нет No	17+
ТIII ЛБЛ TIII LBL	38	М M	Средостение Mediastinum	Нет No	Нет No	↑	Нет No	Негативный negative	Да Yes	19+
ВII ОЛЛ BII ALL	27	Ж F	Яичники и почки Ovaries and kidneys	Да Yes	Нет No	↑	Нет No	Негативный negative	Нет No	18+
ТIV ЛБЛ TIV LBL	45	М M	Средостение Mediastinum	Нет No	Нет No	↑	Нет No	Негативный negative	Нет No	17+
ТIII ОЛЛ TIII ALL	59	М M	Лимфатические узлы Lymph nodes	Да Yes	Нет No	норма	Нет No	Негативный negative	Нет No	19+
ТIII ЛБЛ TIII LBL	32	М M	Средостение Mediastinum	Нет No	Нет No	↑	Да Yes	Негативный negative	Да Yes	10 (ЦНС рецидив) (CNS relapse)
ТIII ОЛЛ TIII ALL	26	М	Средостение Mediastinum	Да Yes	Нет No	↑	Нет No	Негативный negative	Нет No	43+

Сокращения: ОЛЛ — острый лимфобластный лейкоз, ЛБЛ — лимфобластная лимфома, М — мужчина, Ж — женщина, КМ — костный мозг, КТ — компьютерная томография, ЦНС — центральная нервная система, ЛДГ — лактатдегидрогеназа, ауто-ТГСК — трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток крови, ПЭТ — позитронно-эмиссионная томография, ЛТ — лучевая терапия, БРВ — безрецидивная выживаемость. ↑ — повышенный уровень, БРВ+ — не было рецидива.

Abbreviations: ALL — acute lymphoblastic leukemia, LBL — lymphoblastic lymphoma, M — man, F — female, BM — bone marrow, CT — computer tomography, CNS — central nervous system, LDH — lactate dehydrogenase, auto-HSCT — autologous stem hematopoietic cell transplantation, PET — positron emission tomography, RT — radiation therapy, RFS — relapse-free survival. ↑ — elevated level, RFS+ — no relapse.

метаболическая активность в ранее выявляемых или новых очагах не выявлена. Результаты ПЭТ/КТ были сопоставлены с рутинным (патоморфологические исследования, КТ, УЗИ, МРТ) обследованием в контрольные точки согласно протоколам ОЛЛ-2016 и Ph+ОЛЛ-2012m [19], по данным которого у всех больных была подтверждена клинико-гематологическая ремиссия ОЛЛ. У больной Ж, 28 лет, с массивным поражением средостения, вовлечением почек и яичников подтверждена ремиссия согласно критериям В. D. Cheson и соавт. [10], при выполнении КТ органов грудной клетки и МРТ органов брюшинного пространства и малого таза. Всем больным выполнено исследование минимальной резидуальной болезни (МРБ) методом иммунофенотипирования, данных за персистенцию МРБ не получено. При СЦИ и FISH исследованиях изменения кариотипа не обнаружены. Однако у больной с Ph-положительным ОЛЛ, по данным молекулярного исследования, подтверждена персистенция транскрипта p190 0,025 %.

Таким образом, результаты контрольного обследования (цитологические, иммунофенотипические, цитогенетические исследования костного мозга и инструмен-

тальные методы КТ и УЗИ) сопоставимы с результатами ПЭТ/КТ (рис. 2). Однако персистенция МРБ, по данным молекулярного исследования транскрипта BCR-ABL, была выявлена у больной Ph-положительным ОЛЛ при отсутствии признаков метаболической активности ФДГ в костях по данным ПЭТ, что свидетельствует о том, что молекулярное исследование необходимо выполнять больным даже при ПЭТ-негативном статусе, так как молекулярный метод является наиболее чувствительным (чувствительность 1×10^{-4} — обнаружение 1 опухолевой клетки на 10 000 исследуемых).

Все описанные больные на момент публикации находятся в полной ремиссии, сроки наблюдения составили 24 месяца, 21 месяц и 13 месяцев соответственно. Больной с Ph-положительным ОЛЛ была выполнена трансплантация аллогенного костного мозга от неродственного полностью совместимого донора в июле 2018 г., остальные двое больных с Ph-негативным ОЛЛ получают поддерживающую терапию по протоколу «ОЛЛ-2016».

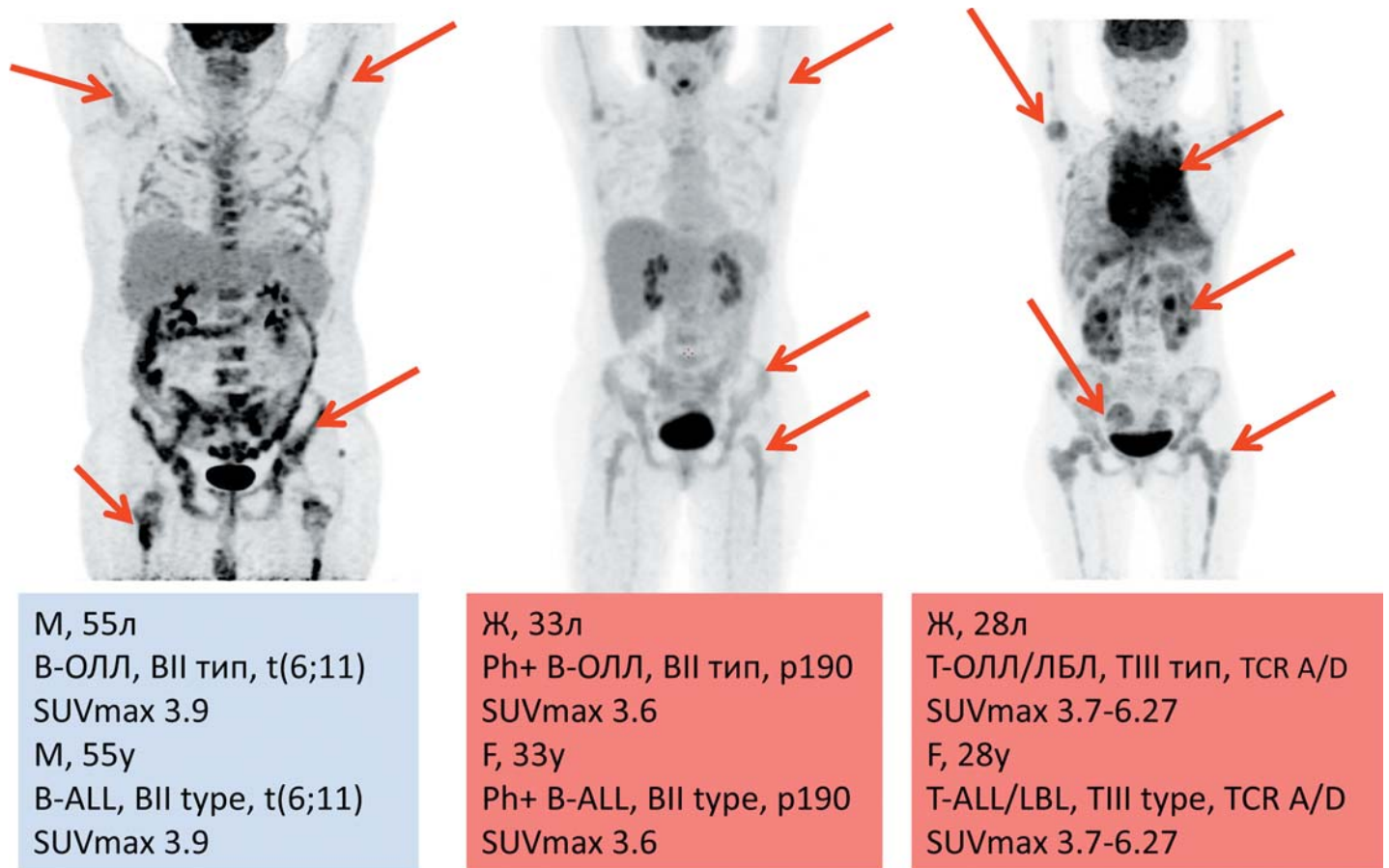


Рисунок 1. ПЭТ/КТ у больных с впервые выявленным ОЛЛ/ЛБЛ
Figure 1. PET/CT in patients with newly diagnosed ALL/LBL

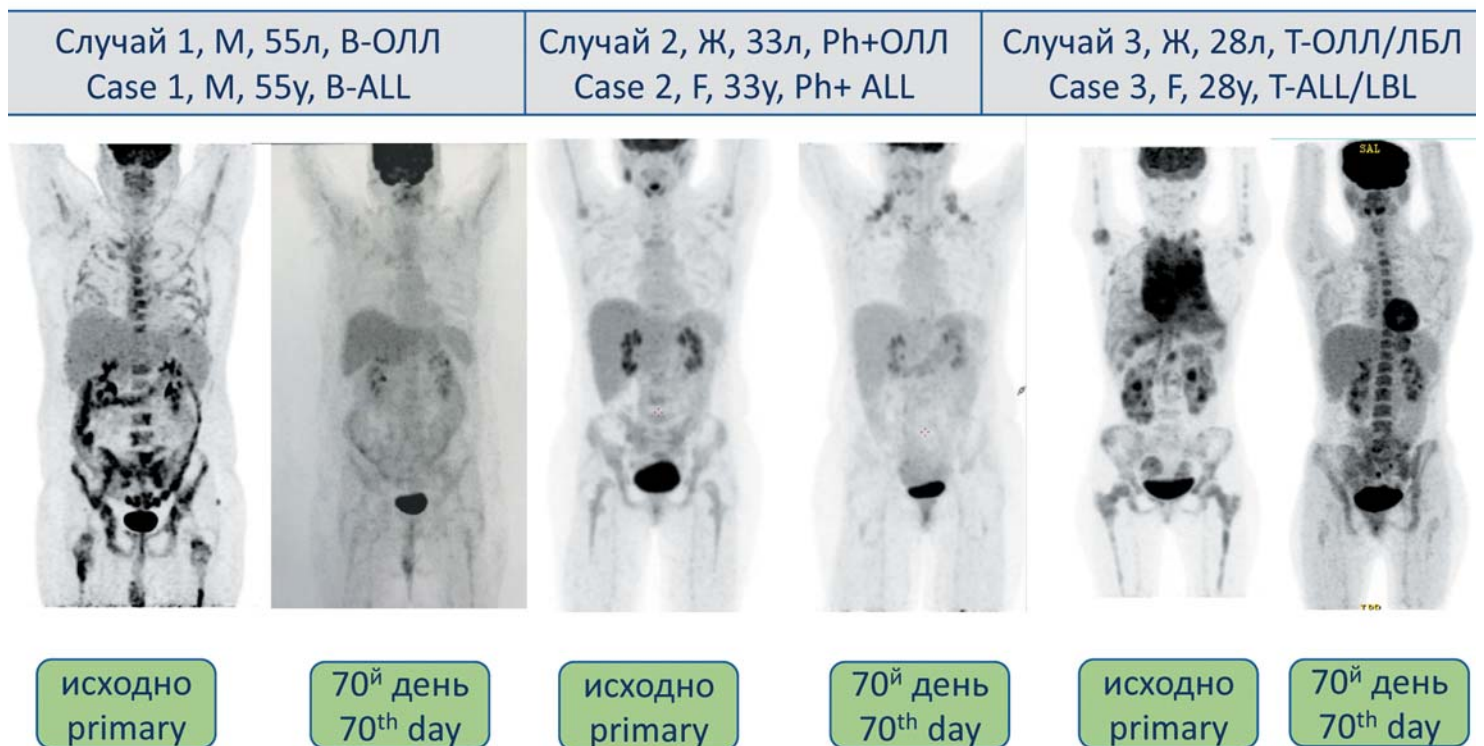


Рисунок 2. ПЭТ/КТ у больных с ОЛЛ/ЛБЛ в дебюте заболевания и после окончания индукционной терапии по протоколу ОЛЛ-2016/Ph+ОЛЛ-2012
Figure 2. PET/CT in patients with ALL/LBL at the onset of the disease and after completion of induction therapy according to the ALL-2016/Ph+ALL-2012 protocol

По результатам второй части исследования, у 10 больных ОЛЛ/ЛБЛ, включенных в исследование, после окончания консолидации (консолидации $\pm$ ауто-ТГСК) по протоколу «ОЛЛ-2009»/«ОЛЛ-2016» подтверждена ПЭТ-негативная ремиссия заболевания. 4 (40 %) больным после этого этапа перед поддерживающей терапией выполнена лучевая терапия на область остаточного образования средостения, лучевая терапия проводилась всем больным при размерах остаточного образования более 3 см в наибольшем диаметре. При медиане наблюдения 20,5 месяцев (от 15 до 44 месяцев) только у одного из 10 больных через 10 месяцев после достижения ремиссии был зарегистрирован изолированный нейрорецидив. Остальные 9 больных остаются под наблюдением, у всех сохраняется ремиссия заболевания, медиана БРВ — 19 мес. (от 14 до 43 мес.).

Обсуждение

Протоколы лечения ОЛЛ, применяемые в настоящее время, позволяют достичь достаточно высокой эффективности лечения [15–20]. По данным, представленным Российской научно-исследовательской группой по изучению ОЛЛ, эффективность терапии по протоколу «ОЛЛ-2009» Т-ОЛЛ сопоставима с другими международными протоколами (GMALL, GIMEMA) [14]. Из 58 больных Т-ОЛЛ у 49 (84,5 %) в результате индукционной терапии была достигнута полная ремиссия. Рефрактерное течение заболевания было зарегистрировано в 5 (8,6 %) случаях, ранняя летальность — в 4 (6,9 %). 2-летняя общая выживаемость у больных Т-ОЛЛ составила 67,2 %, а БРВ — 76,2 %. Достоверных различий в эффективности терапии в зависимости от опухолевого вовлечения костного мозга (ОЛЛ против ЛБЛ) не было выявлено. У 30 % больных в исследовании была выполнена трансплантация стволовых клеток (12 больным — ауто-ТГСК и 3 из 49 больным, у которых достигнута ремиссия, трансплантация аллогенного костного мозга). Трансплантационная летальность после ауто-ТГСК не наблюдалась, случаев рецидивов заболевания не зарегистрировано. Среди 34 больных, которым продолжена поддерживающая терапия после окончания курсов консолидации по протоколу, было зарегистрировано 6 случаев рецидива. Все рецидивы были ранние, возникли на сроках от 2,5 до 20 месяцев (медиана 6,5 месяца). Однако различие в эффективности между группами больных, которым была выполнена ауто-ТГСК и которым продолжали химиотерапию, не может расценено как достоверное, так как авторами указано, что исследование не было рандомизированным, и селекция больных в группу ауто-ТГСК могла сыграть роль в эффективности [20].

При этом современные исследования направлены на поиск маркеров ответа на химиотерапию [15–20]. Доказана неблагоприятная прогностическая значи-

мость выявления МРБ после окончания индукции ремиссии в различных исследованиях [15–18]. Однако не существует методов выявления минимальных признаков болезни при вовлечении в опухолевый процесс экстрамедуллярных очагов у больных ОЛЛ. Кроме того, критерии достижения ремиссии при наличии исходного вовлечения в опухолевый процесс экстрамедуллярных очагов при ОЛЛ/ЛБЛ, как и при других лимфомах, базируются на таких суррогатных показателях, как размеры остаточных образований при отсутствии их полного регресса. Однако сохранение минимальной опухолевой популяции в остаточном образовании может не зависеть от его размера, и степень уменьшения его может не столь достоверно отражать скорость редукции опухоли. Поэтому, гипотетически, ПЭТ/КТ при наличии экстрамедуллярных очагов поражения при ОЛЛ/ЛБЛ может играть огромную роль в оценке полноты ремиссии, так как метаболическая активность РФП в остаточном образовании информативнее других инструментальных методик, применяемых для рутинной оценки ответа.

Выполненное исследование, несмотря на небольшую выборку, является одним из немногих, посвященных этой теме. Полученные результаты продемонстрировали, что все специфические очаги поражения при ОЛЛ, как медуллярные, так и экстрамедуллярные, способны накапливать ^{18}F -ФДГ РФП. Полученные результаты могут послужить основанием для дальнейших исследований данного метода в оценке полноты ремиссии при экстрамедуллярных очагах поражения.

Исследование прогностической значимости ПЭТ/КТ показало, что его результаты сопоставимы с другими методами рутинной диагностики, используемыми для оценки ремиссии, однако не сопоставимы по чувствительности с молекулярными исследованиями. С учетом небольшой когорты и отсутствия в представленном исследовании больных, не достигших ПЭТ-негативного статуса на момент завершения консолидации, не получено достоверных данных о необходимости всем больным с ОЛЛ/ЛБЛ рутинно выполнять ПЭТ/КТ при доказанной клинико-гематологической ремиссии с помощью других лабораторных и инструментальных методов, которые в настоящее время рутинно применяются. На этот вопрос, возможно, смогут ответить последующие исследования.

В проведенном исследовании у всех больных после окончания консолидации по протоколам «ОЛЛ-2009»/«ОЛЛ2016» достигнута ПЭТ-негативная ремиссия, что также отражает высокую эффективность протокола у больных с Т-ОЛЛ/ЛБЛ. Отсутствие рецидивов у больных с ПЭТ-негативным статусом подтверждает диагностическую значимость данного метода. Однако случай изолированного нейрорецидива у больного с ПЭТ-негативной ремиссией, при отсутствии исходного вовлечения оболочек спинного мозга, позволяет говорить об ограничении данного метода

диагностики поражения ЦНС при ОЛЛ. Возможно, для диагностики поражения ЦНС необходимо применение другого РФП.

Таким образом, исследование значения ПЭТ при ЛБЛ и ОЛЛ с экстрамедуллярными очагами поражения является актуальным. Возможно, дальнейшие исследования значения ПЭТ-диагностики при ОЛЛ позволят получить ответ на такие вопросы: как, в какие сроки

оптимально выполнять ПЭТ для оценки эффективности терапии, нужно ли всем больным с экстрамедуллярными очагами при ОЛЛ рутинно выполнять его, при каких размерах остаточного образования необходима лучевая терапия и имеет ли вообще значение размер остаточного образования для необходимости выполнения лучевой терапии, какой РФП оптимально применять при ОЛЛ/ЛБЛ.

Литература

1. Portell C.A., Sweetenham J.W. Adult lymphoblastic lymphoma. *Cancer J.* 2012; 18: 432–8.
2. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., et al. WHO Classification of tumors of haemopoietic tissues. France: IARC; 2008.
3. Ellin F., Jerkeman M., Hagberg H., Relander T. Treatment outcome in T-cell lymphoblastic lymphoma in adults — a population-based study from the Swedish Lymphoma Registry. *Acta Oncol.* 2014; 53: 927–34.
4. Dores G.M., Devesa S.S., Curtis R.E., et al. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001–2007. *Blood.* 2010; 119: 34–43.
5. Sant M., Allemani C., Tereanu C., et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood.* 2010; 116: 3724–34.
6. Bassan R., Maino E., Cortelazzo S. Lymphoblastic lymphoma: an update review on biology, diagnosis, and treatment. *European journal of Haematology.* 2015; 96: 447–60.
7. Thompson C.J. Instrumentation. Principles and Practice of Positron Emission Tomography. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002:48–64.
8. Abdulqadhr G., Molin D., Astrum G., et al. Whole-body diffusion-weighted imaging compared with FDG-PET/CT in staging of lymphoma patients. *Acta Radiol.* 2011; 52(2): 173–80.
9. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Acute lymphoblastic leukemia. 2018.
10. Cheson B.D., Pfistner B., Juweid M.E., et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *Journal of Clinical Oncology.* 2007; 25(5): 579–86.
11. Park J.H., Pahn K., Kim S., et al. Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging of T-lymphoblastic lymphoma patients. *Oncology letters.* 2016; 12: 1620–22.
12. Becker S., Vermeulin T., Cottreau A-S., et al. Predictive value of 18F-FDG PET/CT in adults with T-cell lymphoblastic lymphoma: post hoc analysis of results from the GRAALL-LYSA L03 trial. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2017. DOI: 10.1007/s00259-017-3776-3
13. Gokbuget N., Wolf A., Stelljes M., et al. Favorable outcome in a large cohort of prospectively treated adult patients with T-lymphoblastic lymphoma (T-LBL) despite slowly evolving complete remission assessed by conventional radiography. *Blood.* 2014; 124: 370.
14. Ellin F., Jerkeman M., Hagberg H., Relander T. Treatment outcome in T-cell lymphoblastic lymphoma in adults — a population-based study from the Swedish Lymphoma Registry. *Acte Oncol.* 2014; 53: 927–34.
15. Gokbuget N., Kneba M., Raff T., et al. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for stem cell transplantation and targeted therapies. *Blood.* 2012; 120(9): 1868–76.
16. Beldjord K., Chevret S., Asnafi V., et al. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2014; 123(24): 3739–49.

References

1. Portell C.A., Sweetenham J.W. Adult lymphoblastic lymphoma. *Cancer J.* 2012; 18: 432–8.
2. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., et al. WHO Classification of tumors of haemopoietic tissues. France: IARC; 2008.
3. Ellin F., Jerkeman M., Hagberg H., Relander T. Treatment outcome in T-cell lymphoblastic lymphoma in adults — a population-based study from the Swedish Lymphoma Registry. *Acta Oncol.* 2014; 53: 927–34.
4. Dores G.M., Devesa S.S., Curtis R.E., et al. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001–2007. *Blood.* 2010; 119: 34–43.
5. Sant M., Allemani C., Tereanu C., et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood.* 2010; 116: 3724–34.
6. Bassan R., Maino E., Cortelazzo S. Lymphoblastic lymphoma: an update review on biology, diagnosis, and treatment. *European journal of Haematology.* 2015; 96: 447–60.
7. Thompson C.J. Instrumentation. Principles and Practice of Positron Emission Tomography. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002:48–64.
8. Abdulqadhr G., Molin D., Astrum G., et al. Whole-body diffusion-weighted imaging compared with FDG-PET/CT in staging of lymphoma patients. *Acta Radiol.* 2011; 52(2): 173–80.
9. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Acute lymphoblastic leukemia. 2018.
10. Cheson B.D., Pfistner B., Juweid M.E., et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *Journal of Clinical Oncology.* 2007; 25(5): 579–86.
11. Park J.H., Pahn K., Kim S., et al. Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging of T-lymphoblastic lymphoma patients. *Oncology letters.* 2016; 12: 1620–22.
12. Becker S., Vermeulin T., Cottreau A-S., et al. Predictive value of 18F-FDG PET/CT in adults with T-cell lymphoblastic lymphoma: post hoc analysis of results from the GRAALL-LYSA L03 trial. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2017. DOI: 10.1007/s00259-017-3776-3
13. Gokbuget N., Wolf A., Stelljes M., et al. Favorable outcome in a large cohort of prospectively treated adult patients with T-lymphoblastic lymphoma (T-LBL) despite slowly evolving complete remission assessed by conventional radiography. *Blood.* 2014; 124: 370.
14. Ellin F., Jerkeman M., Hagberg H., Relander T. Treatment outcome in T-cell lymphoblastic lymphoma in adults — a population-based study from the Swedish Lymphoma Registry. *Acte Oncol.* 2014; 53: 927–34.
15. Gokbuget N., Kneba M., Raff T., et al. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for stem cell transplantation and targeted therapies. *Blood.* 2012; 120(9): 1868–76.
16. Beldjord K., Chevret S., Asnafi V., et al. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2014; 123(24): 3739–49.

17. Bassan R., Spinelli O., Oldani E., et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood*. 2009; 113(18): 4153–62.
18. Ribera J.-M., Oriol A., Morgades M., et al. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32(15): 1595–604.
19. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред. Савченко В.Г.М.: Практика; 2018(2):571–617, 619–664, 887–959.
20. Паровичникова Е.Н., Клясова Г.А., Троицкая В.В. и др. Эффективность лечения взрослых больных острым Т-лимфобластным лейкозом по протоколу ОЛЛ-2009 Российской научно-исследовательской группы по изучению острых лейкозов. *Терапевтический архив*. 2013; (85)8: 29–34.

Информация об авторах

Гаврилина Ольга Александровна*, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.gavrilina@mail.ru, тел. +7(495) 612-45-92; 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9969-8482>

Троицкая Вера Витальевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: verat@blood.ru ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>

Басхаева Галина Александровна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: rara4v1s@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2763-5391>

Лукьянова Ирина Анатольевна, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с дневным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: irina.donskova99@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8337-2242>

Зарубина Ксения Игоревна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: ksenijazarubina@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2947-6398>;

17. Bassan R., Spinelli O., Oldani E., et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood*. 2009; 113(18): 4153–62.
18. Ribera J.-M., Oriol A., Morgades M., et al. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32(15): 1595–604.
19. Savchenko V.G. Algoritmy diagnostiki i protokoly lecheniya zabolevanij sistemy krovi. Moscow, 2018(2): 571–617, 619–664, 887–959 (In Russian).
20. Parovichnikova E.N., Klyasova G.A., Troitskaia V.V., et al. Efficiency of treatment of adult patients with acute T-lymphoblastic leukemia according to the ALL-2009 protocol of the Russian Acute Leukemia Study Group. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2013; (85)8: 29–34 (In Russian).

Information about the authors

Olga A. Gavrilina*, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of the High-Dose Chemotherapy for Hemoblastoses and Bone Marrow Transplantation; Hematologist, Department of the High-Dose Chemotherapy for Hemoblastoses and Hematopoiesis Depressions with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.gavrilina@mail.ru, тел. +7(495) 612-45-92; 125167, Moscow, Novyy Zykovskiy proezd, 4. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9969-8482>

Vera V. Troitskaya, Cand. Sci. (Med.), Head of the Intensive High-Dose Chemotherapy Department for patients with Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions, National Research Center for Hematology, e-mail: verat@blood.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>

Galina A. Baskhaeva, Hematologist, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hemoblastoses and Hemopoiesis Depression with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: rara4v1s@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2763-5391>

Irina A. Lukyanova, Hematologist at the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hemoblastoses and Hemopoiesis Depression with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: irina.donskova99@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8337-2242>

Kseniya I. Zarubina., Hematologist, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hemoblastoses and Hemopoiesis Depression with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: ksenijazarubina@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2947-6398>;

Паровичникова Елена Николаевна, доктор медицинских наук, руководитель отдела интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: parovichnikova@gmail.com;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Elena N. Parovichnikova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hemoblastoses and Bone Marrow Transplantation, National Research Centre for Hematology,
e-mail: parovichnikova@gmail.com;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 18.02.2019

Принята к печати: 14.05.2019

*** Corresponding author**

Received 18 Feb 2019

Accepted 14 May 2019

ХИМИОТЕРАПИЯ ПО ПРОГРАММЕ R-mNHL-BFM-90 В КОМБИНАЦИИ С ЛЕНАЛИДОМИДОМ КАК ТЕРАПИЯ ПЕРВОЙ ЛИНИИ У БОЛЬНЫХ MUM1-ПОЗИТИВНОЙ ДИФфуЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМОЙ И ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЛИМФОМОЙ 3В ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО ТИПА

Габеева Н.Г.^{1*}, Королева Д.А.¹, Смольянинова А.К.¹, Беляева А.В.¹, Татарникова С.А.¹, Гемджян Э.Г.¹, Цыганкова С.В.², Булыгина Е.С.², Расторгуев С.М.², Недолужко А.В.², Нарайкин О.С.², Бидерман Б.В.¹, Судариков А.Б.¹, Обухова Т.Н.¹, Ковригина А.М.¹, Звонков Е.Е.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Диффузная В-крупноклеточная лимфома постгерминального происхождения (АВС-ДВККЛ) и фолликулярная лимфома 3В цитологического типа (ФЛЗВ) отличаются агрессивным течением и резистентностью к химиотерапии (ХТ). Оба заболевания характеризуются активацией генов постгерминальной стадии дифференцировки В-клеток и высокой экспрессией транскрипционного белка MUM1. Леналидомид в комбинации с R-CHOP позволил улучшить результаты лечения больных АВС-ДВККЛ, однако около 40 % остаются резистентными к проводимой терапии.

Цель: оценить эффективность и токсичность программы R-mNHL-BFM-90 с леналидомидом (R2-mNHL-BFM-90), а также проанализировать возможные причины резистентности к ХТ больных АВС-ДВККЛ и ФЛЗВ.

Больные и методы. В период с октября 2016 по декабрь 2018 г. в исследование были включены 8 больных с MUM1-позитивной ДВККЛ и ФЛЗВ. У всех больных проводили цитогенетическое исследование опухолевых образцов, определялся мутационный статус гена *TP53* методом секвенирования по Сэнгеру.

Результаты. Больные получали комбинированную ХТ по программе R2-mNHL-BFM-90 с леналидомидом в дозе 25 мг/сут с 1 по 10 день каждого курса. Трем больным в качестве консолидации была проведена трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. После окончания ХТ у всех больных была достигнута полная ремиссия заболевания. Рецидив развился у 1 больного с мутацией в гене *TP53*. При сроке наблюдения 11 месяцев (1–23) бессобытийная выживаемость составила 87 %.

Заключение. Программа R2-mNHL-BFM-90 продемонстрировала высокую эффективность и приемлемую токсичность у больных АВС-ДВККЛ и ФЛЗВ. Наличие мутации в гене *TP53* является фактором крайне неблагоприятного прогноза даже при применении интенсивных программ терапии и диктует необходимость разработки альтернативных подходов к лечению.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома 3В цитологического типа, MUM-позитивные лимфомы, мутации в гене *TP53*

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Габеева Н.Г., Королева Д.А., Смольянинова А.К., Беляева А.В., Татарникова С.А., Гемджян Э.Г., Цыганкова С.В., Булыгина Е.С., Расторгуев С.М., Недолужко А.В., Нарайкин О.С., Бидерман Б.В., Судариков А.Б., Обухова Т.Н., Ковригина А.М., Звонков Е.Е. Химиотерапия по программе R-mNHL-BFM-90 в комбинации с леналидомидом как терапия первой линии у больных MUM1-позитивной диффузной В-крупноклеточной лимфомой и фолликулярной лимфомой 3В цитологического типа. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2):150–164. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-150-164>

CHEMOTHERAPY ACCORDING TO THE R-mNHL-BFM-90 PROTOCOL IN COMBINATION WITH LENALIDOMIDE AS THE FIRST LINE THERAPY IN PATIENTS WITH MUM1-POSITIVE DIFFUSIVE LARGE B-CELL LYMPHOMA AND FOLLICULAR LYMPHOMA GRADE 3B

Gabeeva N. G.^{1,2}, Koroleva D. A.¹, Smolyaninova A. K.¹, Belyaeva A. V.¹, Tatarnikova C. A.¹, Gemdzhian E. G.¹, Tsygankova S. V.², Bulygina E. S.², Rastorguev S. M.², Nedoluzhko A. V.², Naraikin O. C.², Biderman B. V.¹, Sudarikov A. B.¹, Obukhova T. N.¹, Kovrigina A. M.¹, Zvonkov E. E.¹

¹National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

²National Research Center «Kurchatov institute», 123182, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Diffuse large B-cell lymphoma of postgerminal origin (ABC-DLBCL) and follicular lymphoma grade 3B (FL3B) are characterised by an aggressive course and resistance to chemotherapy (CT). Both diseases are characterised by the activation of genes of the post-terminal stage of B-cell differentiation and high expression of the MUM1 transcriptional protein. Lenalidomide in combination with R-CHOP improved the results of treatment in patients with ABC-DLBCL; however, about 40 % of them remain resistant to the therapy.

Aim. The aim of the study was to evaluate the efficacy and toxicity of the R-mNHL-BFM-90 protocol with lenalidomide (R2-mNHL-BFM-90), as well as to analyse possible causes of CT resistance in patients with ABC-DLBCL and FL3B.

Patients and methods. Over the period from October 2016 to December 2018, 8 patients with MUM1-positive DLBCL and FL3B were included in the research. All patients underwent a cytogenetic study of tumour samples. A mutational status of the *TP53* gene was determined by Sanger sequencing.

Results. Patients received combination chemotherapy according to the R2-mNHL-BFM-90 protocol with lenalidomide at a dose of 25 mg/day, from the 1st to the 10th day of each course. Autologous hematopoietic stem cell transplantation was performed as a consolidation in three patients. After the end of the chemotherapy, a complete remission of the disease was achieved in all patients. Relapse developed in 1 patient with a mutation in the *TP53* gene. With a median follow-up period of 11 months (1–23), event-free survival was 87 %.

Conclusions. The R2-mNHL-BFM-90 protocol has demonstrated a high efficacy and acceptable toxicity in patients with ABC-DLBCL and FL3B. The presence of a mutation in the *TP53* gene is established to be an extremely unfavourable prognostic factor even provided intensive treatment protocols, thus requiring the development of alternative approaches to the management of such patients.

Keywords: diffuse large B-cell lymphoma, cytological type 3B follicular lymphoma, MUM-positive lymphomas, *TP53* gene mutation

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Gabeeva N.G., Koroleva D.A., Smolyaninova A.K., Belyaeva A.V., Tatarnikova C.A., Gemdzhian E.G., Tsygankova S.V., Bulygina E.S., Rastorguev S.M., Nedoluzhko A.V., Naraikin O.C., Biderman B.V., Sudarikov A.B., Obukhova T.N., Kovrigina A.M., Zvonkov E.E. Chemotherapy according to the R-mNHL-BFM-90 protocol in combination with lenalidomide as the first line therapy in patients with MUM1-positive diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma grade 3B. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(2):150–164 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-150-164>

Введение

В 2000 г. А.А. Alizadeh и соавт. [1] объяснили одну из главных причин гетерогенности ответа диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ) на стандартную химиотерапию (ХТ) по схеме R-СНОР (ритуксимаб, циклофосфан, винкристин, доксорубин). Выделенные 2 молекулярных подтипа ДВККЛ герминального (GCB-ДВККЛ) и постгерминального происхождения (ABC-ДВККЛ) радикально отличались по показателям беспрогрессивной (БПВ) и общей выживаемости (ОВ) [2]. В 2012 г. С. Visco и соавт. [3], проведя ретроспективный анализ результатов лечения 475 больных ДВККЛ, показали неэффективность ХТ по схемам СНОР/R-СНОР у 40 % больных ДВККЛ. Кроме того, в зависимости от группы риска по международному прогностическому индексу (IPI) [4] и выявленных молекулярных подтипов, у больных GCB-ДВККЛ низкой группы риска (0–1 балл) 5-летняя БПВ составила 86 % против 28 % у больных ABC-ДВККЛ из группы высокого риска (4–5 баллов). Авторы [3] заключили, что включение ритуксимаба в схему СНОР увеличивает БСВ и ОВ только на 10–15 % в общей группе больных ДВККЛ, при еще меньшем эффекте в группах высокого риска.

Повышение эффективности терапии больных ABC-ДВККЛ в группе высокого риска — основная цель большинства исследований, посвященных терапии ДВККЛ. Интенсификация ХТ (R-СНОР, R-СНОР-14, R-DA-EPOCH, NHL-BFM-90, mega-R-СНОР+/-трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК)), а также интеграция новых таргетных препаратов в схему R-СНОР (эверолимус, бортезомиб, обинутузумаб, ибрутиниб) не повысили эффективность лечения больных ABC-ДВККЛ из группы высокого риска [5–8]. Поэтому поиск эффективной терапии был продолжен.

В ряде работ показана высокая эффективность применения монотерапии леналидомидом у больных с рецидивом и прогрессией ABC-ДВККЛ [9, 10], а также в качестве первой линии в сочетании с ХТ по схеме R-СНОР [11–15].

Проведенные в дальнейшем молекулярно-генетические исследования [16, 17] позволили объяснить такое «селективное» действие леналидомида на опухолевые клетки ABC-ДВККЛ, в отличие от GCB-ДВККЛ. Было установлено, что активация сигнального пути В-клеточного рецептора и в последующем транскрипционного фактора NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) приводит к стойкой экспрессии белка MUM1 (multiple myeloma 1), который является ведущим медиатором передачи активационных сигналов на поздних этапах постгерминальной дифференцировки В-лимфоцитов ABC-ДВККЛ. Леналидомид является не только иммуномодулирующим

препаратом. Он оказывает ингибирующее действие на экспрессию транскрипционного фактора MUM1, реализуя свое цитостатическое действие в В-клетках ABC-ДВККЛ [18]. Непосредственный механизм противоопухолевого воздействия леналидомида основан на его способности связываться с цереблосомом — основным белком E3 убиквитин лигазного комплекса. В результате запускается механизм активной убиквитинации и протеосомной деградации транскрипционных факторов IKZF1/3 (непосредственных активаторов экспрессии MUM1) [19].

Подобно ДВККЛ, фолликулярная лимфома 3В цитологического типа (ФЛ3В) характеризуется значительной гетерогенностью клинических и морфологических проявлений при схожем с ABC-ДВККЛ иммунофенотипе и профиле экспрессии генов. При отсутствии транслокации t(14;18) и негативности по CD10 для ФЛ3В характерна высокая экспрессия MUM1 [20, 21]. По сравнению с другими цитологическими типами ФЛ прогноз при ФЛ3В хуже, а 5-летняя ОВ не превышает 45 % даже при применении антрациклинсодержащих курсов ХТ [22, 23]. С целью повышения эффективности терапии ФЛ3В, а также учитывая схожесть с ABC-ДВККЛ в экспрессии белка MUM1, обоснованно включение в схемы ХТ леналидомида.

Опубликованное описание успешного излечения больного ABC-ДВККЛ из группы высокого риска с применением комбинированной ХТ по программе R2-mNHL-BFM-90, что дает основания для интенсификации «базовой» ХТ [24]. Это подтверждается исследованием J. Godfrey и соавт. [25], в котором была показана высокая эффективность интенсифицированной ХТ по схеме R-DA-EPOCH с леналидомидом (R2-DA-EPOCH) у больных double-expressor lymphoma, которая была представлена преимущественно ABC-ДВККЛ. Все 10 больных, получивших терапию, достигли полной ремиссии при медиане наблюдения 24 месяца [25].

В течение длительного времени в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ для лечения агрессивных лимфом была адаптирована педиатрическая программа R-mNHL-BFM-90. Это позволило улучшить результаты лечения в общей группе, однако большинство неудач в терапии были связаны с ABC-подтипом ДВККЛ в группе высокого риска и ФЛ3В [26–28]. В настоящей статье представлены первые результаты применения интенсивной программы R2-mNHL-BFM-90 в лечении больных с ABC-ДВККЛ и ФЛ3В из группы высокого риска.

Цель работы — оценить эффективность и токсичность программы R-mNHL-BFM-90 с леналидомидом (R2-mNHL-BFM-90), а также проанализировать возможные причины резистентности к химиотерапии больных ABC-ДВККЛ и ФЛ3В.

Больные и методы

В протокол были включены все больные в возрасте от 18 до 70 лет с впервые установленным, по данным гистологического и иммуногистохимического исследований биоптатов опухоли, диагнозом ABC-ДВККЛ (non-GCB-ДВККЛ — в иммуногистохимическом определении) и ФЛЗВ цитологического типа, согласно критериям классификации всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [29], из группы промежуточно-высокого и высокого риска по IPI [4]. Не включались больные с лимфатической опухолью в анамнезе, инфицированные вирусом иммунодефицита человека, а также с тяжелой сопутствующей патологией, препятствующей проведению интенсивной ХТ. Помимо протокола обследования, принятого в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава РФ [30], определяли стадию по Ann Arbor и группы риска по IPI [30], перед началом ХТ проводили позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), совмещенную с компьютерной томографией (КТ) (ПЭТ/КТ), выполняли диагностическую люмбальную пункцию, трепанобиопсию с определением В-клеточной клональности методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в костном мозге [30]. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием антител к CD5, CD20, CD23, CD10, BCL2, BCL6, MUM1, Ki-67. Принадлежность к иммуногистохимическому варианту non-GCB-ДВККЛ определялась по алгоритму С. Hans [31].

Всем больным выполнялось стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ) и флуоресцентная гибридизация *in situ* (fluorescence in situ hybridization — FISH) на интерфазных ядрах для выявления транслокаций с вовлечением локусов генов *c-Myc/8q24*, *BCL2/18q21*, *BCL6/3q27* и делеции локуса гена *TP53/17p13*. Анализ мутаций в 1(2)-11 экзонах гена *TP53* проводили в НИЦ «Курчатовский институт» (ДНК из периферической крови и костного мозга выделяли с использованием наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit; ДНК из тканей выделяли с помощью обработки протеиназой К при 50° в течение 16–20 часов с последующей очисткой смесью фенолхлороформа; ДНК из парафиновых блоков выделяли с использованием набора Extract DNA FFPE; выравнивание и анализ полученных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit v.3) и в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ по протоколам IARC (International Agency for Research on Cancer); ПЦР-продукты секвенировали с использованием набора Big Dye Terminator v1.1 (ThermoFisher Scientific, США) на автоматическом анализаторе нуклеиновых кислот «Нанофор 05»; полученные последовательности анализировали на наличие мутаций в онлайн-программе GLASS; вероятную патогенность проверяли в онлайн базах данных мутаций гена IARC, SESHAT и COSMIC) [32–35]. В НИЦ «Курчатовский институт» одному больному было выполнено полно-

экзомное секвенирование на приборе NovaSeq 6000 по 150 нуклеотидов с каждого конца фрагмента. Далее полученные нуклеотидные чтения были картированы на геном человека GRCh38 из базы данных Ensembl с помощью программного пакета bowtie2, функциональный анализ значимости выявленных однонуклеотидных полиморфизмов был проведен с помощью программ SIFT и PolyPhen-2.

Все больные подписали информированное согласие перед проведением ХТ.

Протокол лечения включал проведение терапии блоками по программе R2-mNHL-BFM-90 (4–6 курсов, блоки А, В) [24]. Больные получали леналидомид в дозе 25 мг ежедневно с 1 по 10 день каждого цикла. Сопроводительная терапия проводилась согласно протоколам, принятым в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, при проведении интенсивной и высокодозной ХТ лимфатических опухолей [30].

Оценку эффективности терапии проводили с применением лабораторных и инструментальных исследований, ПЭТ/КТ, трепанобиопсии и определением В-клеточной клональности методом ПЦР в костном мозге.

Статистический анализ данных проведен с использованием методов описательной статистики и анализа выживаемости (по методу Каплана — Мейера). Для бессобытийной выживаемости событием являлось развитие рецидива, прогрессии или смерти от любой причины, время отсчитывалось от начала ХТ. Для расчетов использовались статистические программы StatView 4 и SAS 9.4.

Результаты

Терапия по протоколу R2-mNHL-BFM-90 была проведена у 8 больных. Диагноз non-GCB-ДВККЛ был установлен у 3 больных, ФЛЗВ цитологического типа — у 5 больных. Средний возраст больных составил 52 года (от 36 до 69 лет). У всех больных определялась 3–4-я стадии заболевания по Ann Arbor (массивные конгломераты внутри- и забрюшинных лимфатических узлов, спленомегалия — 4 больных), экстранодальные очаги поражения (кости, мягкие ткани, миндалины, надпочечники, поджелудочная железа — 4 больных). Поражение костного мозга было выявлено у 1 больного. Повышение сывороточной активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) более чем в 2 раза от нормы (от 700 до 3700 ед/л при нормальных значениях 208–378 ед/л) отмечалось у всех 8 больных. Ни у одного больного по результатам исследования ликвора до начала лечения не выявлены патологические изменения клеточного состава. В соответствии с International Prognostic Index (IPI) [36] все больные относились к промежуточно-высокой и высокой группе риска (табл. 1).

В соответствии с алгоритмом С. Hans и соавт. [31], у всех больных ДВККЛ определялся иммунофенотип

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика больных**Table 1.** Clinical and laboratory characteristics of patients

№	Пол/ возраст Sex/ age	Диагноз Diagnosis	Объем поражения Lesion volume	ЛДГ ме/л LDH me/L	Костный мозг Bone marrow	Стадия Stage	IPI	Ki-67
1	М. 47	ДВККЛ, non-GCB DLBCL, non-GCB	Гепатоспленомегалия, bulky забрюшинных и внутрибрюшных лимфоузлов Hepatosplenomegaly, bulky retroperitoneal and intraperitoneal lymph nodes	3700	+	IV	4	95 %
2	М. 55	ДВККЛ, non-GCB DLBCL, non-GCB	Конгломераты всех групп лимфоузлов, мягкие ткани и миндалина слева Conglomerates of all groups of lymph nodes, soft tissues and tonsil on the left	700	-	IV	3	90 %
3	Ж. 69 Е. 69	ФЛЗВ / ДВККЛ FL3V / DLBCL	bulky забрюшинных лимфоузлов, спленомегалия bulky retroperitoneal lymph nodes, splenomegaly	1400	-	IV	3	70 %
4	М. 65	ФЛЗВ / ДВККЛ FL 3V / DLBCL	Конгломераты лимфоузлов, спленомегалия Conglomerates of lymph nodes, splenomegaly	1500	-	IV	4	80 %
5	Ж. 38 Е. 38	ФЛЗВ / ДВККЛ FL 3V / DLBCL	Конгломераты лимфоузлов, миндалины, мягкие ткани Conglomerates of lymph nodes, tonsils, soft tissues	850	-	IV	3	70 %
6	М. 52	ФЛЗВ FL 3V	Конгломераты лимфоузлов, спленомегалия, кости Conglomerates of lymph nodes, splenomegaly	1407	-	IV	3	60 %
7	М. 36	ДВККЛ, non-GCB DLBCL, non-GCB	Конгломерат забрюшинных лимфоузлов, надпочечники, поджелудочная железа Conglomerate of retroperitoneal lymph nodes, adrenal glands, pancreas	900	-	III	3	80 %
8	Ж. 53 Е. 53	ФЛЗВ FL 3V	Конгломераты всех групп лимфоузлов Conglomerates of all groups of lymph nodes	1000		III	3	80 %

Примечание: ДБККЛ, non-GCB — диффузная В-крупноклеточная лимфома, негерминальный вариант, ФЛ — фолликулярная лимфома, IPI — международный прогностический индекс, ЛДГ — лактатдегидрогеназа.

Note. DLBCL, non-GCB diffuse large B-cell lymphoma, non-germinal variant, FL-follicular lymphoma, IPI — international prognostic index, LDH — lactate dehydrogenase.

В-клеток постгерминального этапа дифференцировки (non-GCB-ДВККЛ). У 3 из 5 больных ФЛЗВ имелись признаки трансформации в ДВККЛ. У всех больных определялась мономорфная ядерная экспрессия белка MUM1 при отсутствии CD10. В 7 из 8 случаев опухолевые клетки были позитивны к BCL6. Экспрессия белка с-Мус определялась у 3 больных, у всех не выше 30 %. Маркер пролиферативной активности Ki67 составлял от 60 до 95 % опухолевых клеток.

СЦИ и/или FISH были проведены всем больным на клеточном субстрате и отпечатках опухолевых образцов. СЦИ исходно было выполнено 5 больным, из них комплексный кариотип с множественными хромосомными поломками был обнаружен у одного. При FISH исследовании у 5 больных выявлялись поломки в локусе гена *BCL6/3q27* (делеции, трисомии, дупликации), гена *BCL2/18q21* (трисомии, дупликации), у 1 были выявлены дополнительные сигналы от гена *c-Myc/8q24*. Делеция 17p13 была обнаружена у 2 больных.

Патогенная мутация в гене *TP53* в 7 экзоне, приводящая к замене аргинина в 249 позиции на серин (C.747G>T, p.Arg249Ser), была обнаружена только у одного больного (табл. 2).

Оценку токсичности терапии проводили по шкале токсичности National Cancer Institute — Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) [37]. При проведении лечения гематологическая токсичность III/IV степени наблюдалась у всех 8 больных. Однако время восстановления количества лейкоцитов крови после блока В составило не более 2 дней, после блока А максимальная продолжительность нейтропении составила 15 дней. Продолжительность тромбоцитопении составила от 0 до 6 дней после блока А и от 5 до 12 дней — после блока В.

Тяжелые инфекционные осложнения развились у 2 больных. У одного больного (№ 2) развилась тяжелая плевропневмония. У больной 69 лет (№ 3) после 4 курса (блок А) в период миелотоксического агранулоцитоза развился сепсис смешанной этиологии (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*) и двусторонняя мультифокальная пневмония.

Всем больным для оценки эффективности терапии проводилось ПЭТ/КТ исследование. До начала терапии средний показатель SUVmax (стандартизированный уровень захвата) составил 16 (от 12 до 30). Промежуточная ПЭТ/КТ выполнена 5 больным после 2 блоков: средний SUVmax составил 2,5 (от 1,48 до 3,1).

Таблица 2. Данные СЦИ и FISH исследований биоптатов опухолевой ткани
Table 2. Data from SCA and FISH studies of tumour tissue biopsy

№	СЦИ SCA	FISH				mut TP53
		BCL6/3q27	BCL2/18q21	cMYC/8q24	TP53/17p13	
1	Нормальный кариотип <i>Normal karyotype</i>	-	трисомия? дупликация? <i>trisomy? duplication?</i>	-	Делеция Deletion	-
2	Нормальный кариотип <i>Normal karyotype</i>	Транслокация <i>translocation</i>	трисомия? дупликация? <i>trisomy? duplication?</i>	-	-	+
3	Клон с дериватом хр 1 и маркерными хромосомами <i>Clone with chr 1 derivative and marker chromosomes</i>	Транслокация <i>Translocation</i>	трисомия? дупликация? <i>trisomy? duplication?</i>	трисомия? дупликация? <i>trisomy? duplication?</i>	-	-
4	н/д <i>n/d</i>	Транслокация <i>Translocation</i>	-	-	Делеция <i>Deletion</i>	-
5	н/д <i>n/d</i>	-	-	-	-	-
6	н/д <i>n/d</i>	Делеция / транслокация теломерной части? <i>Deletion / translocation of the telomeric part?</i>	-	-	-	-
7	Нормальный кариотип <i>Normal karyotype</i>	-	-	-	н/д <i>n/d</i>	-
8	48,XX,del(2)(q21),+3,-6, add(7)(p21),-10, der(14), der(18), der(18), +3mar[6]/ 46, XX[14] Комплексный кариотип: делеция длинного плеча хр 2 и трисомия хр 3, моносомия хр 6 и 10, дериваты хр 7, 14, 18 и маркерные хромосомы <i>Complex karyotype: deletion of the chr 2 long arm and chr 3 trisomy, chr 6 and 10 monosomy, chr 7,14,18 derivatives and marker chromosomes</i>	трисомия? дупликация? <i>trisomy? duplication?</i>	полисомия? дупликация? <i>polysomy? duplication?</i>	-	-	-

Примечание: СЦИ — стандартное цитогенетическое исследование, FISH — флюоресцентная гибридизация in situ, н/д — нет данных.

Note. SCA — Standard Assay, FISH — fluorescent in situ hybridization, n/d — no data.

По окончании лечения средний SUV_{max} составил 1,78 (от 1,0 до 2,6).

Все больные завершили терапию по протоколу R2-mNHL-BFM-90. Шесть больных получили 4 блока, один больной — 6 блоков. У 1 больного в связи с наличием биохимических признаков почечной недостаточности (повышение сывороточных концентраций креатинина до 0,247 ммоль/л и мочевины до 14 ммоль/л) из программы ХТ был исключен метотрексат. Одной больной в связи с тяжелой переносимостью ХТ (энтеропатия, динамическая кишечная непроходимость) и достижением полной ремиссии после 2 блоков было проведено 2 курса R-ЕРОСН с леналидомидом.

Троим из 8 больных (все в возрасте до 55 лет) с консолидирующей целью была проведена трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). В результате проведенной терапии у всех 8 больных была достигнута полная ремиссия (ПР) заболевания, подтвержденная ПЭТ/КТ (табл. 3).

У одного больного (№ 2) через 2 месяца после завершения лечения развился рецидив. Несмотря на проведение противорецидивной ХТ, больной умер в результате прогрессии заболевания.

Учитывая единственную неудачу в лечении, был проведен кариологический и молекулярно-генетический анализ образцов опухоли до лечения и в момент развития рецидива. При СЦИ клеток биоптата лимфоузла, взятого до лечения, не было выявлено хромосомных aberrаций. Только методом FISH в 30 % ядер определялась транслокация с вовлечением локуса гена *BCL6/3q27* и дополнительный сигнал от локуса гена *BCL2/18q21*. Делеция *TP53/17p13* и моносомия 17 не выявлялись. Во время рецидива при СЦИ был выявлен клон с множеством субклонов, комплексными нарушениями кариотипа (>20), включая дериваты хромосом 3, 14, 17, дицентрическими и маркерными хромосомами. Методом FISH выявлены транслокации с вовлечением локусов генов *BCL6/3q27*, *IGH/14q32*, два

Таблица 3. Результаты лечения 8 больных
Table 3. Results of treatment of 8 patients

№	TP53	Индукция R2-mNHL-BFM-90 R2-mNHL-BFM-90 induction	Консолидация ауто-ТГСК Auto-HSCT consolidation	Результат, мес. Result, months
1	WT	BAVABA	+	ПР +23 CR +23
2	mut TP53	ABAB	+	Рецидив 2 (умер) Relapse 2 (died)
3	WT	BAVA		ПР +19 CR +19
4	WT	BAVA		ПР +16 CR +16
5	WT	BAVA	+	ПР +13 CR +13
6	WT	BAVA		ПР +9 CR +9
7	WT	BAVA		ПР +2 CR +2
8	WT	BA+2ЕРОСН		ПР +1 CR +1

Примечание: ПР — полная ремиссия.
Note. CR — Complete remission.

дополнительных сигнала от локусов гена *IGH/14q32*, дополнительный сигнал от локуса гена *BCL2/18q21* и делеция *TP53/17p13*.

Методом секвенирования по Сэнгеру была выявлена патогенная мутация в 7-м экзоне гена *TP53*. При ретроспективной оценке материала, взятого до лечения, также была выявлена мутация в 7-м экзоне гена *TP53*. В ходе дальнейшего исследования опухолевого образца данного больного методом полноэкзомного секвенирования дополнительно были выявлены множественные мутации в генах *MLL/KMT2A*, *ATM* и *CXCR5*. У остальных 7 больных, у которых сохраняется ремиссия заболевания, мутации в гене *TP53* выявлены не были. При среднем сроке наблюдения 11 месяцев (1–23) БСВ составила 87 % (рис. 1).

Обсуждение

В литературе нет информации относительно комбинации интенсивной ХТ и леналидомид у больных АВС-ДВККЛ и ФЛЗВ. В настоящей работе впервые была оценена эффективность подобной комбинации. Смертность, связанная с лечением, равна нулю, при максимальном возрасте больных 69 лет. У 7 из 8 больных достигнута ПР заболевания. Пока небольшие сроки наблюдения и число больных недостаточны для окончательных выводов, но, учитывая прогностически неблагоприятную группу включенных в исследование больных, получение 87 % ПР дает основание для продолжения этого исследования.

Высокая экспрессия белка MUM1 при АВС-ДВККЛ и ФЛЗВ, вероятнее всего, является «ахиллесовой пятой» для реализации таргетного воздействия леналидомид. При анализе данных литературы из многочисленных

таргетных препаратов именно леналидомид оказался наиболее успешно интегрирован в схему R-CHOP у больных АВС-ДВККЛ. По данным G.S. Nowakowski и соавт. [13], применение леналидомид в комбинации с R-CHOP (R2-CHOP) в первой линии терапии non-GCB-ДВККЛ позволило улучшить показатели 2-летней БПВ и ОВ по сравнению с больными, получавшими лечение по программе R-CHOP (60 против 28 %, 83 против 46 % соответственно) и даже нивелировать разницу в ОВ в группах GCB-ДВККЛ и non-GCB-ДВККЛ. A. Castellino и соавт. [15] опубликовали отдаленные результаты, доказывающие преимущества программы R2-CHOP, где в группе больных non-GCB-ДВККЛ 5-летняя БПВ и ОВ составили 64,5 и 74,1 %. В анализируемой группе у 88 % была диагностирована III–IV стадии заболевания, у 56 % IPI составил 4–5 баллов. Несмотря на пожилой возраст большинства больных (49 % больных были старше 70 лет), профиль гематологической и негематологической токсичности не отличался от таковых на программе R-CHOP. Таким образом, интеграция леналидомид в схему R-CHOP позволила нивелировать негативное влияние non-GCB подтипа ДВККЛ на прогноз. Однако, несмотря на полученное преимущество, от 20 до 30 % больных АВС-ДВККЛ остались резистентны к ХТ по схеме R2-CHOP [13].

Поэтому представляется рациональным не только применить леналидомид в первой линии терапии больных АВС-ДВККЛ, но и интенсифицировать ХТ. Была применена модифицированная программа R-mNHL-BFM-90, ввиду длительного и успешного опыта ее применения в терапии агрессивных лимфом [26, 27]. В отличие от схемы R-CHOP в данной про-

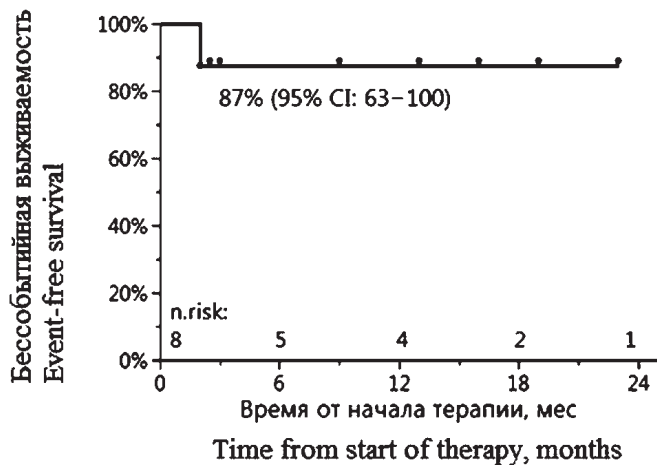


Рисунок 1. Бессобытийная выживаемость больных ДВККЛ, получивших лечение по программе R2-m-NHL-BFM-90: однолетняя бессобытийная выживаемость составила 87 % (95 % ДИ: 63–100) при медиане наблюдения 11 мес. (1–23)

Figure 1. Event-free survival rates in DLBCL patients having received treatment according to R2-m-NHL-BFM-90 protocol: the one-year event-free survival was 87 % (95 % CI: 63–100) with a follow-up median of 11 months (1–23).

грамме применяется принцип многокомпонентной блоковой терапии с применением сразу нескольких препаратов, различающихся по механизму действия (этопозид, цитарабин, метотрексат) (табл. 4). Влияние на разные фазы клеточного цикла и фракционированный режим введения позволяют достичь максимально быстрой эрадикации опухолевого клона при лимфомах с высокой митотической активностью. В исследование были также включены больные ФЛЗВ цитологического типа в связи со схожестью иммуноморфологических и молекулярно-генетических характеристик с АВС-ДВККЛ [38]. По профилю экспрессии генов, подобно АВС-ДВККЛ, для ФЛЗВ также характерна активация генов сигнального пути NF- κ B [39]. ФЛЗВ, хотя и занимает «промежуточное» положение между ФЛ и ДВККЛ, клинически обычно имеет агрессивное течение. Даже несмотря на применение более агрессивных курсов ХТ, 5-летняя ОВ больных ФЛЗВ неудовлетворительна и не превышает 45 % [40]. Поэтому для лечения ФЛЗВ было бы рационально руководствоваться принципами лечения АВС-ДВККЛ.

В исследовании все больные относились к группе промежуточно-высокого или высокого риска по IPI: III–IV стадии, повышение активности сывороточной ЛДГ, ECOG > 2 [41], наличие экстранодалных очагов поражения. У всех выявлялась экспрессия MUM1 и отсутствие CD10, высокий индекс пролиферативной активности Ki67 (до 95 %). В отличие от ФЛ 1–2 цитологического типа, при которой частота поражения костного мозга составляет почти 90 %, ни у одного из больных ФЛЗВ, включенных в исследование, поражение костного мозга выявлено не было (клиническая особенность, также характерная для ДВККЛ) [42].

Несмотря на имеющиеся в литературе данные о миелотоксическом воздействии леналидомида, гематологическая токсичность у больных при выполнении данного протокола была приемлемой: максимальное время вос-

становления нейтрофилов после блока В составило всего 2 дня, после блока А — 5 дней. Только у 69-летней больной после 4 курса развился миелотоксический агранулоцитоз продолжительностью 15 дней.

В результате проведенной терапии у всех больных удалось достичь ремиссии заболевания. Только у одного больного развился ранний рецидив, несмотря на то что в качестве консолидации ему была проведена ауто-ТГСК. В поисках возможных факторов прогноза такого резистентного течения заболевания были проанализированы клиничко-лабораторные данные, полученные при первичном обследовании. Однако ни по одному из учитываемых параметров (распространенность, локализация, симптомы опухолевой интоксикации, хромосомные поломки) различий по сравнению с другими больными выявлено не было. Единственным фактором неблагоприятного прогноза, выявленным только у данного больного, была мутация в гене *TP53*. Вероятнее всего, клональная эволюция опухоли, с появлением нескольких субклонов, на фоне интенсивного цитостатического воздействия произошла именно при «выключенной» функции белка p53.

В. Шарцу и соавт. [43] в результате полногеномного секвенирования опухолевых образцов 304 больных ДВККЛ выделили в отдельный молекулярный кластер (C2) случаи с биаллельной мутацией в гене *TP53*. Вне зависимости от молекулярного подтипа эти случаи часто сочетались с делецией 17p, генетической нестабильностью и крайне неблагоприятным прогнозом.

При ДВККЛ мутации в гене *TP53* выявляются примерно в четверти случаев, являясь мощным негативным фактором прогноза у больных как GCB-, так и АВС-ДВККЛ [44–49]. Однако при АВС-ДВККЛ они встречаются чаще [50]. Анализ, проведенный среди 506 больных ДВККЛ в MD Anderson Cancer Center [46], показал статистически достоверное снижение ОВ и БРВ ($p = 0,0005$ и $p = 0,0004$) при наличии мутаций

Таблица 4. Схема протокола R2-mNHL-BFM-90
Table 4. Scheme of the R2-mNHL-BFM-90 protocol

Препараты Preparations	Дозы Doses	Дни Days
Предфаза Prephase		
Циклофосфамид Cyclophosphamide	200 мг/м² в/в капельно 200 mg/m ² IV infusion	1–4
Дексаметазон Dexamethasone	10 мг/м² в/в капельно 10 mg/m ² IV infusion	1–5
Блок R2-A Block R2-A		
Леналидомид Lenalidomide	25 мг ежедневно энтерально 25 mg daily enteral	1–10
Ифосфамид Ifosfamide	800 мг/м² в/в капельно 800 mg/m ² IV infusion	1–5
Метотрексат Methotrexate	1000 мг/м² в/в капельно в течение 12 часов 1000 mg/m ² IV infusion for 12 hours	1
Винкристин Vincristine	2 мг в/в струйно 2 mg IV bolus	1
Доксорубицин Doxorubicin	50 мг/м² в/в капельно 50 mg/m ² IV infusion	3
Цитарабин Cytarabine	150 мг/м² в/в капельно 2 раза в сутки 150 mg/m ² IV infusion 2 times a day	4–5
Этопозид Etoposide	120 мг/м² в/в капельно 120 mg/m ² IV infusion	4–5
Дексаметазон Dexamethasone	10 мг/м² в/в капельно 10 mg/m ² IV infusion	1–5
Ритуксимаб Rituximab	375 мг/м² в/в капельно за 6 часов 375 mg/m ² IV infusion in 6 hours	0
Блок R2-B Block R2-B		
Леналидомид Lenalidomide	25 мг ежедневно энтерально 25 mg daily enteral	1–10
Циклофосфамид Cyclophosphamide	200 мг/м² в/в капельно 200 mg/m ² IV infusion	1–5
Метотрексат Methotrexate	1000 мг/м² в/в капельно в течение 12 часов 1000 mg/m ² IV infusion for 12 hours	1
Винкристин Vincristine	2 мг в/в струйно 2 mg IV bolus	1
Доксорубицин Doxorubicin	25 мг/м² в/в капельно 25 mg/m ² IV infusion	4–5
Дексаметазон Dexamethasone	10 мг/м² в/в капельно 10 mg/m ² IV infusion	1–5
Ритуксимаб Rituximab	375 мг/м² в/в капельно за 6 часов 375 mg/m ² IV infusion in 6 hours	0

в гене *TP53*. Однако важно отметить, что все исследования касались больных, которые получали терапию по программе R-CHOP. Данные о прогностическом влиянии мутаций в гене *TP53* на результаты интенсивной ХТ в комбинации с леналидомидом в мировой литературе отсутствуют.

Таким образом, полученные положительные результаты дают основания для продолжения работы, увеличения числа больных, сроков наблюдения, а также лабораторных

данных по детекции мутаций в гене *TP53*. В перспективе рационально проведение рандомизированного исследования в группах больных с леналидомидом и без. Для больных ДВККЛ и ФЛЗВ с ранней идентификацией мутаций в гене *TP53*, а также в случае резистентности к ХТ по программе R2-mNHL-BFM-90, необходимо рассмотреть возможность проведения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток или продолжить поиск других альтернативных схем ХТ.

Литература

1. Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E., et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000; 403: 503–11. PMID: 10676951
2. Rosenwald A., Wright G., Chan W.C., et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002; 346: 1937–47. PMID: 12075054
3. Visco C., Yan Li, Xu-Monette Z.Y., et al. Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: A report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Leukemia*. 2012; 26(9): 2103–13. DOI: 10.1038/leu.2012.83
4. Shipp M.A., Harrington D.P. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The international non-Hodgkin's Lymphoma prognostic factors project. *N Engl J Med*. 1993; 329(14): 987–94. DOI: 10.1056/NEJM199309303291402
5. Leonard J.P., Kolibaba K.S., Reeves J.A., et al. Randomized Phase II Study of R-CHOP With or Without Bortezomib in Previously Untreated Patients With Non-Germinal Center B-Cell-Like Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2017; 35(31): 3538–46. DOI: 10.1200/JCO.2017.73.2784
6. Vitolo U., Trněný M., Belada D., et al. Obinutuzumab or Rituximab Plus CHOP in Patients with Previously Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Final Results from an Open-Label, Randomized Phase 3 Study (GOYA). *Blood*. 2016; 128: 470.
7. Vitolo U., Trněný M., Belada D., et al. Obinutuzumab or rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone in previously untreated diffuse large B-Cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2017; 35(31): 3529–37. DOI: 10.1200/JCO.2017.73.3402
8. Younes A., Sehn L.H., Johnson P., et al. A Global, Randomized, Placebo-Controlled, Phase 3 Study of Ibrutinib Plus Rituximab, Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone (RCHOP) in Patients with Previously Untreated Non-Germinal Center B-Cell-like (GCB) Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL). *ASH*. 2018; 784.
9. Mondello P., Steiner N., Willenbacher W., et al. Lenalidomide in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Is It a Valid Treatment Option? *Oncologist*. 2016; 21(9): 1107–12. DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0103
10. Hernandez-Ilizaliturri F.J., Deeb G., Zinzani P.L., et al. Higher Response to Lenalidomide in Relapsed/ Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Nongerminal Center B-Cell-Like Than in Germinal Center B-Cell-Like Phenotype. *Cancer*. 2011; 117(22): 5058–66. DOI: 10.1002/cncr.26135
11. Thieblemont C., Tilly H., Gomes de Silva M., et al. Lenalidomide maintenance compared with placebo in responding elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with first-line rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol*. 2017; 35(22): 2473–81. DOI: 10.1200/JCO.2017.76984
12. Vitolo U., Chiappella A., Franceschetti S., et al. Lenalidomide plus R-CHOP21 in elderly patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: results of the REAL07 open-label, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2014; 15(7): 730–7. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70191-3
13. Nowakowski G.S., LaPlant B., Macon W.R., et al. Lenalidomide combined with R-CHOP overcomes negative prognostic impact of non-germinal center B-cell phenotype in newly diagnosed diffuse large B-Cell lymphoma: a phase II study. *J Clin Oncol*. 2015; 33(3): 251–7. DOI: 10.1200/JCO.2014.55.5714
14. Nowakowski G.S., Chiappella A., Witzig T.E., et al. ROBUST: Lenalidomide-R-CHOP versus placebo-R-CHOP in previously untreated ABC-type diffuse large B-cell lymphoma. *Future Oncol*. 2016; 12(13): 1553–63. DOI: 10.2217/fon-2016-0130

References

1. Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E., et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000; 403: 503–11. PMID: 10676951
2. Rosenwald A., Wright G., Chan W.C., et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002; 346: 1937–47. PMID: 12075054
3. Visco C., Yan Li, Xu-Monette Z.Y., et al. Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: A report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Leukemia*. 2012; 26(9): 2103–13. DOI: 10.1038/leu.2012.83
4. Shipp M.A., Harrington D.P. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The international non-Hodgkin's Lymphoma prognostic factors project. *N Engl J Med*. 1993; 329(14): 987–94. DOI: 10.1056/NEJM199309303291402
5. Leonard J.P., Kolibaba K.S., Reeves J.A., et al. Randomized Phase II Study of R-CHOP With or Without Bortezomib in Previously Untreated Patients With Non-Germinal Center B-Cell-Like Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2017; 35(31): 3538–46. DOI: 10.1200/JCO.2017.73.2784
6. Vitolo U., Trněný M., Belada D., et al. Obinutuzumab or Rituximab Plus CHOP in Patients with Previously Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Final Results from an Open-Label, Randomized Phase 3 Study (GOYA). *Blood*. 2016; 128: 470.
7. Vitolo U., Trněný M., Belada D., et al. Obinutuzumab or rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone in previously untreated diffuse large B-Cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2017; 35(31): 3529–37. DOI: 10.1200/JCO.2017.73.3402
8. Younes A., Sehn L.H., Johnson P., et al. A Global, Randomized, Placebo-Controlled, Phase 3 Study of Ibrutinib Plus Rituximab, Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone (RCHOP) in Patients with Previously Untreated Non-Germinal Center B-Cell-like (GCB) Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL). *ASH*. 2018; 784.
9. Mondello P., Steiner N., Willenbacher W., et al. Lenalidomide in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Is It a Valid Treatment Option? *Oncologist*. 2016; 21(9): 1107–12. DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0103
10. Hernandez-Ilizaliturri F.J., Deeb G., Zinzani P.L., et al. Higher Response to Lenalidomide in Relapsed/ Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Nongerminal Center B-Cell-Like Than in Germinal Center B-Cell-Like Phenotype. *Cancer*. 2011; 117(22): 5058–66. DOI: 10.1002/cncr.26135
11. Thieblemont C., Tilly H., Gomes de Silva M., et al. Lenalidomide maintenance compared with placebo in responding elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with first-line rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol*. 2017; 35(22): 2473–81. DOI: 10.1200/JCO.2017.76984
12. Vitolo U., Chiappella A., Franceschetti S., et al. Lenalidomide plus R-CHOP21 in elderly patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: results of the REAL07 open-label, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2014; 15(7): 730–7. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70191-3
13. Nowakowski G.S., LaPlant B., Macon W.R., et al. Lenalidomide combined with R-CHOP overcomes negative prognostic impact of non-germinal center B-cell phenotype in newly diagnosed diffuse large B-Cell lymphoma: a phase II study. *J Clin Oncol*. 2015; 33(3): 251–7. DOI: 10.1200/JCO.2014.55.5714
14. Nowakowski G.S., Chiappella A., Witzig T.E., et al. ROBUST: Lenalidomide-R-CHOP versus placebo-R-CHOP in previously untreated ABC-type diffuse large B-cell lymphoma. *Future Oncol*. 2016; 12(13): 1553–63. DOI: 10.2217/fon-2016-0130

15. Castellino A., Chiappella A., LaPlant B.R., Pederson L.D., et al. Lenalidomide plus R-CHOP21 in newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): long-term follow-up results from a combined analysis from two phase 2 trials. *Blood Cancer Journal*. 2018; 8: 108. DOI: 10.1038/s41408-018-0145-9
16. Davis R.E., Ngo V.N., Lenz G., et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature*. 2010; 463: 88–92.
17. Davis R.E., Brown K.D., Siebenlist U., Staudt L.M. Constitutive nuclear factor kappa B activity is required for survival of activated B Cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med*. 2001; 194: 1861–74. DOI: 10.1038/nature08638
18. Zhang L.H., Kosek J., Wang M., et al. Lenalidomide efficacy in activated b-cell-like subtype diffuse large B-cell lymphoma is dependent upon IRF4 and cereblon expression. *Br J Haematol*. 2013; 160(4): 487–502. DOI: 10.1111/bjh.12172
19. Yang Y., Shaffer A.L., Emre N.C., et al. Exploiting synthetic lethality for the therapy of ABC diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell*. 2012; 21(6): 723–37. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.05.024
20. Bosga-Bouwer A.G., van den Berg A., Haralambieva E., et al. Molecular, cytogenetic, and immunophenotypic characterization of follicular lymphoma grade 3B; a separate entity or part of the spectrum of diffuse large B-cell lymphoma or follicular lymphoma? *Hum Pathol*. 2006; 37: 528–33. DOI: 10.1016/j.humpath.2005.12.005
21. Karube K., Guo Y., Suzumiya J., et al. CD10-MUM1 follicular lymphoma lacks BCL2 gene translocation and shows characteristic biologic and clinical features. *Blood*. 2007; 109(7): 3076–9. DOI: 10.1182/blood-2006-09-045989
22. Wahlin B.E., Yri O.E., Kimby E., et al. Clinical significance of the WHO grades of follicular lymphoma in a population-based cohort of 505 patients with long follow-up times. *Br J Haematol*. 2012; 156(2): 225–33. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08942
23. Freedman A. Follicular lymphoma: 2018 update on diagnosis and management. *Am J Hematol*. 2018; 93(2): 296–305. DOI: 10.1002/ajh.24937
24. Габеева Н.Г., Звонков Е.Е., Королева Д.А. и др. Успешный опыт терапии больного генерализованной non-GCB-ДВККЛ по протоколу R-mNHL-BFM-90 с леналидомидом: собственное наблюдение и обзор литературы. *Терапевтический архив*. 2018; 90(7):96-101; DOI: 10.26442/terarkh201890796-101.
25. Godfrey J.K., Nabhan C., Karrison T., et al. Phase 1 Study of Lenalidomide Plus Dose-Adjusted EPOCH-R in Patients With Aggressive B-Cell Lymphomas With Deregulated MYC and BCL2. *Cancer*. 2019; 125(11): 1830–6. DOI: 10.1002/cncr.31877
26. Магомедова А.У., Кравченко С.К., Кременецкая А.М. и др. Девятилетний опыт лечения больных диффузной В-крупноклеточной лимфосаркомой. *Терапевтический архив*. 2011; 83(7): 5–10. PMID: 21894745
27. Звонков Е.Е., Морозова А.К., Кравченко С.К. Лечение взрослых больных первичной диффузной В-крупноклеточной лимфосаркомой желудка по модифицированной программе NHL-BFM-90. Программное лечение заболеваний системы крови. Под ред. Савченко В.Г. М.: Практика; 2012.
28. Пластинина Л.В., Ковригина А.М., Обухова Т.Н. и др. Фолликулярная лимфома 3-го цитологического типа: de novo и трансформированный варианты заболевания (собственные данные). *Клиническая онкогематология*. 2017; 10(4): 453–63. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-4-453-463
29. Swerdlow S.H., Campo E, Harris N.L., et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edn. IARC. Lyon; 2016.
30. Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика; 2018.
31. Hans C.P., Weisenburger D.D., Greiner T.C., et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B cell lymphoma by immunohistochem-
15. Castellino A., Chiappella A., LaPlant B.R., Pederson L.D., et al. Lenalidomide plus R-CHOP21 in newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): long-term follow-up results from a combined analysis from two phase 2 trials. *Blood Cancer Journal*. 2018; 8: 108. DOI: 10.1038/s41408-018-0145-9
16. Davis R.E., Ngo V.N., Lenz G., et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature*. 2010; 463: 88–92.
17. Davis R.E., Brown K.D., Siebenlist U., Staudt L.M. Constitutive nuclear factor kappa B activity is required for survival of activated B Cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med*. 2001; 194: 1861–74. DOI: 10.1038/nature08638
18. Zhang L.H., Kosek J., Wang M., et al. Lenalidomide efficacy in activated b-cell-like subtype diffuse large B-cell lymphoma is dependent upon IRF4 and cereblon expression. *Br J Haematol*. 2013; 160(4): 487–502. DOI: 10.1111/bjh.12172
19. Yang Y., Shaffer A.L., Emre N.C., et al. Exploiting synthetic lethality for the therapy of ABC diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell*. 2012; 21(6): 723–37. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.05.024
20. Bosga-Bouwer A.G., van den Berg A., Haralambieva E., et al. Molecular, cytogenetic, and immunophenotypic characterization of follicular lymphoma grade 3B; a separate entity or part of the spectrum of diffuse large B-cell lymphoma or follicular lymphoma? *Hum Pathol*. 2006; 37: 528–33. DOI: 10.1016/j.humpath.2005.12.005
21. Karube K., Guo Y., Suzumiya J., et al. CD10-MUM1 follicular lymphoma lacks BCL2 gene translocation and shows characteristic biologic and clinical features. *Blood*. 2007; 109(7): 3076–9. DOI: 10.1182/blood-2006-09-045989
22. Wahlin B.E., Yri O.E., Kimby E., et al. Clinical significance of the WHO grades of follicular lymphoma in a population-based cohort of 505 patients with long follow-up times. *Br J Haematol*. 2012; 156(2): 225–33. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08942
23. Freedman A. Follicular lymphoma: 2018 update on diagnosis and management. *Am J Hematol*. 2018; 93(2): 296–305. DOI: 10.1002/ajh.24937
24. Gabеева Н.Г., Звонков Е.Е., Королева Д.А., et al. Successful experience of treatment of a patient with generalized non-GCB- DLBCL using the R-mNHL-BFM-90 protocol with lenalidomide: case report and review of literature. *Terapevticheskii arkhiv*. 2018; 90(7): 96–101 (In Russian). DOI: 10.26442/terarkh201890796-101
25. Godfrey J.K., Nabhan C., Karrison T., et al. Phase 1 Study of Lenalidomide Plus Dose-Adjusted EPOCH-R in Patients With Aggressive B-Cell Lymphomas With Deregulated MYC and BCL2. *Cancer*. 2019; 125(11): 1830–6. DOI: 10.1002/cncr.31877
26. Magomedova A.U., Kravchenko S.K., Kremenetskaya A.M., et al. Nine-year experience in the treatment of patients with diffuse large B-cell lymphosarcoma. *Terapevticheskii arkhiv*. 2011; 83(7): 5–10 (In Russian). PMID: 21894745
27. Zvonkov E.A., Morozova A.K., Kravchenko S.K. Treatment of adult patients with primary diffuse large B-cell lymphosarcoma of the stomach according to the modified program NHL-BFM-90. *Treatment of diseases of the blood system*. Savchenko V.G., ed. Moscow: Practice; 2012 (In Russian).
28. Plastinina L.V., Kovrigina A.M., Obukhova T.N., et al. The Comparison of De Novo Grade 3 Follicular Lymphoma and Transformed Grade 3 Follicular Lymphoma: Own Data. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2017; 10(4): 453–63 (In Russian). DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-4-453-463
29. Swerdlow S.H., Campo E, Harris N.L., et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edn. IARC. Lyon; 2016.
30. Program treatment of diseases of the blood system: a collection of diagnostic algorithms and protocols for the treatment of diseases of the blood system. Savchenko V.G., ed. Moscow: Praktika; 2018 (In Russian).
31. Hans C.P., Weisenburger D.D., Greiner T.C., et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B cell lymphoma by immunohistochem-

- istry using a tissue microarray. *Blood*. 2004; 103(1): 275–82. DOI: 10.1182/blood-2003-05-1545
32. http://p53.iarc.fr/Download/TP53_DirectSequencing_IARC.pdf
33. <http://station2.arrest.tools/glass/>
34. <http://vps338341.ovh.net/>
35. <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>
36. International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 1993; 329(14): 987–94. DOI: 10.1056/NEJM199309303291402
37. Common Terminology Criteria for Adverse Events, version 3.0 (CTCAE). 2009. URL: http://ctep.cancer.gov/protocol_Development/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf.
38. Horn H., Schmelter C., Leich E., et al. Follicular lymphoma grade 3B is a distinct neoplasm according to cytogenetic and immunohistochemical profiles. *Haematologica*. 2011; 96(9): 1327–34. DOI: 10.3324/haematol.2011.042531
39. Leich E., Salaverria I., Bea S., et al. Follicular lymphomas with and without translocation t(14;18) differ in gene expression profiles and genetic alterations. *Blood*. 2009; 114(4): 826–34. DOI: 10.1182/blood-2009-01-198580
40. Mustafa A.M., Rybicki L., Nomani L., et al. Grade 3 Follicular Lymphoma: Outcomes in the Rituximab Era. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017; 17(12): 797–803. DOI: 10.1016/j.clml.2017.07.002
41. Oken M.M., Creech R.H., Tormey D.C., et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982; 5(6): 649–55. PMID: 7165009
42. Park Y., Park B.B., Jeong J.Y., et al. Assessment of bone marrow involvement in patients with lymphoma: report on a consensus meeting of the Korean Society of Hematology Lymphoma Working Party. *Korean J Intern Med*. 2016; 31(6): 1030–1041. DOI: 10.3904/kjim.2015.006
43. Chapuy B., Stewart C., Dunford A.J. et al., Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat Med*. 2018; 24(5): 679–90. DOI: 10.1038/s41591-018-0016-8
44. Zenz T., Kreuz M., Fuge M., et al. TP53 mutation and survival in aggressive B cell lymphoma. *Int. J. Cancer*. 2017; 141: 1381–88. DOI: 10.1002/ijc.30838
45. Xu-Monette Z.Y., Wu L., Visco C., et al. Mutational profile and prognostic significance of TP53 in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP: report from an International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 2012; 120(19): 3986–96. DOI: 10.1182/blood-2012-05-433334
46. Xu-Monette Z.Y., Medeiros L.J., Li Y., et al. Dysfunction of the TP53 tumor suppressor gene in lymphoid malignancies. *Blood*. 2012; 119(16): 3668–83. DOI: 10.1182/blood-2011-11-366062
47. Levine A.J., Vosburgh E. P53 mutations in lymphomas: position matters. *Blood*. 2008; 112(8): 2997–8. DOI: 10.1182/blood-2008-07-167718
48. Young K.H., Leroy K., Moller M.B., et al. Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study. *Blood*. 2008; 112(8): 3088–98. DOI: 10.1182/blood-2008-01-129783
49. Joerger A.C., Fersht A.R. Structural biology of the tumor suppressor p53. *Annu Rev Biochem*. 2008; 77: 557–82. DOI: 10.1146/annurev.biochem.77.060806.091238
50. Sun P., Chen C., Xia Y., et al. Mutation Profiling of Malignant Lymphoma by Next-Generation Sequencing of Circulating Cell-Free DNA. *J Cancer*. 2019; 10(2): 323–31. DOI: 10.7150/jca.27615
- istry using a tissue microarray. *Blood*. 2004; 103(1): 275–82. DOI: 10.1182/blood-2003-05-1545
32. http://p53.iarc.fr/Download/TP53_DirectSequencing_IARC.pdf
33. <http://station2.arrest.tools/glass/>
34. <http://vps338341.ovh.net/>
35. <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>
36. International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 1993; 329(14): 987–94. DOI: 10.1056/NEJM199309303291402
37. Common Terminology Criteria for Adverse Events, version 3.0 (CTCAE). 2009. URL: http://ctep.cancer.gov/protocol_Development/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf.
38. Horn H., Schmelter C., Leich E., et al. Follicular lymphoma grade 3B is a distinct neoplasm according to cytogenetic and immunohistochemical profiles. *Haematologica*. 2011; 96(9): 1327–34. DOI: 10.3324/haematol.2011.042531
39. Leich E., Salaverria I., Bea S., et al. Follicular lymphomas with and without translocation t(14;18) differ in gene expression profiles and genetic alterations. *Blood*. 2009; 114(4): 826–34. DOI: 10.1182/blood-2009-01-198580
40. Mustafa A.M., Rybicki L., Nomani L., et al. Grade 3 Follicular Lymphoma: Outcomes in the Rituximab Era. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017; 17(12): 797–803. DOI: 10.1016/j.clml.2017.07.002
41. Oken M.M., Creech R.H., Tormey D.C., et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982; 5(6): 649–55. PMID: 7165009
42. Park Y., Park B.B., Jeong J.Y., et al. Assessment of bone marrow involvement in patients with lymphoma: report on a consensus meeting of the Korean Society of Hematology Lymphoma Working Party. *Korean J Intern Med*. 2016; 31(6): 1030–1041. DOI: 10.3904/kjim.2015.006
43. Chapuy B., Stewart C., Dunford A.J. et al., Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat Med*. 2018; 24(5): 679–90. DOI: 10.1038/s41591-018-0016-8
44. Zenz T., Kreuz M., Fuge M., et al. TP53 mutation and survival in aggressive B cell lymphoma. *Int. J. Cancer*. 2017; 141: 1381–88. DOI: 10.1002/ijc.30838
45. Xu-Monette Z.Y., Wu L., Visco C., et al. Mutational profile and prognostic significance of TP53 in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP: report from an International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 2012; 120(19): 3986–96. DOI: 10.1182/blood-2012-05-433334
46. Xu-Monette Z.Y., Medeiros L.J., Li Y., et al. Dysfunction of the TP53 tumor suppressor gene in lymphoid malignancies. *Blood*. 2012; 119(16): 3668–83. DOI: 10.1182/blood-2011-11-366062
47. Levine A.J., Vosburgh E. P53 mutations in lymphomas: position matters. *Blood*. 2008; 112(8): 2997–8. DOI: 10.1182/blood-2008-07-167718
48. Young K.H., Leroy K., Moller M.B., et al. Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study. *Blood*. 2008; 112(8): 3088–98. DOI: 10.1182/blood-2008-01-129783
49. Joerger A.C., Fersht A.R. Structural biology of the tumor suppressor p53. *Annu Rev Biochem*. 2008; 77: 557–82. DOI: 10.1146/annurev.biochem.77.060806.091238
50. Sun P., Chen C., Xia Y., et al. Mutation Profiling of Malignant Lymphoma by Next-Generation Sequencing of Circulating Cell-Free DNA. *J Cancer*. 2019; 10(2): 323–31. DOI: 10.7150/jca.27615

Информация об авторах

Габеева Нэлли Георгиевна*, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.gabeeva@gmail.com, тел.: +7(495) 612-4382, доб. 16-97; 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5171-0414>

Королева Дарья Александровна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: koroleva_12-12@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5762-8294>

Смолянинова Анна Константиновна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: anmo8@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0591-2589>

Беляева Анастасия Валерьевна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.belyaeva.a@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4913-2245>

Татарникова Светлана Андреевна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: lana.tatarnikova.89@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8803-1079>

Гемджян Эдуард Георгиевич, старший научный сотрудник информационно-аналитического отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: edstat@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8357-977X>

Цыганкова Светлана Валерьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории палео- и этногенетики Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт», e-mail: svetlana.tsygankova@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1065-3702>

Information about the authors

Nelli G. Gabeeva*, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.gabeeva@gmail.com, tel.: +7(495) 612-4382, ext. 16-97; 125167, Moscow, Novyy Zykovskiy proezd, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5171-0414>

Daria A. Koroleva, Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: koroleva_12-12@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5762-8294>

Anna K. Smolyaninova, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: anmo8@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0591-2589>

Anastasia V. Belyaeva, Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.belyaeva.a@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4913-2245>

Svetlana A. Tatarnikova, Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: lana.tatarnikova.89@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8803-1079>

Eduard G. Gemdzhyan, Senior Researcher, Information and Analytical Department, National Research Centre for Hematology, e-mail: edstat@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8357-977X>

Svetlana V. Tsygankova, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Paleo- and Ethnogenetics, Nature-Like Technologies Kurchatov Complex, National Research Centre "Kurchatov Institute", e-mail: svetlana.tsygankova@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1065-3702>

Булыгина Евгения Станиславовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ресурсного центра молекулярно-клеточной биологии Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт»,
e-mail: eugenia.bulygina@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3795-0571>

Расторгуев Сергей Михайлович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории палео- и этногенетики Курчатовского комплекса НБИКС — природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт»,
e-mail: rastorgueff@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0095-0255>

Недолужко Артем Валерьевич, кандидат биологических наук, руководитель лаборатории палео- и этногенетики Курчатовского комплекса НБИКС — природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт»,
e-mail: nedoluzhko@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7040-0892>

Нарайкин Олег Степанович, доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе и связям с органами государственной власти НИЦ «Курчатовский институт».

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>

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

Ковригина Алла Михайловна, доктор биологических наук, заведующая патологоанатомическим 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>

Обухова Татьяна Никифоровна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией кариологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: obukhova_t@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

Evgeniya S. Bulygina, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Resource Centre of Molecular Cell Biology, Nature-Like Technologies Kurchatov Complex, National Research Centre "Kurchatov Institute",
e-mail: eugenia.bulygina@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3795-0571>

Sergey M. Rastorguev, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Paleo- and Ethnogenetics, Nature-Like Technologies Kurchatov Complex, National Research Centre "Kurchatov Institute",
e-mail: rastorgueff@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0095-0255>

Artyom V. Nedoluzhko, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Paleo-and Ethnogenetics, Nature-Like Technologies Kurchatov Complex, National Research Centre "Kurchatov Institute",
e-mail: nedoluzhko@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7040-0892>

Oleg S. Naraikin, Dr. Sci. (Tech.), Prof., RAS Corresponding Member, Deputy Director for Research and Relations with Government Agencies, National Research Centre "Kurchatov Institute".

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

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

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

Tatyana N. Obukhova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Karyology Laboratory, National Research Centre for Hematology,
e-mail: obukhova_t@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

Звонков Евгений Евгеньевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dr.zvonkov@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2639-7419>

Evgeny E. Zvonkov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.zvonkov@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2639-7419>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 20.02.2019

Принята к печати: 14.05.2019

*** Corresponding author**

Received 20 Feb 2019

Accepted 14 May 2019

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *CYP3A5* И *hOCT1* У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Сафуанова Г. Ш.^{1,*}, Рябчикова Н. Р.¹, Хуснутдинова Э. К.², Каримов Д. О.³, Миннихметов И. Р.^{2,4}

¹ ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 450008, Уфа, Россия

² Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук», 450054, Уфа, Россия

³ ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия

⁴ ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр», 450076, Уфа, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. У больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в гене *BCR-ABL*, а также от типа мутаций, наблюдается различный терапевтический эффект при лечении ингибиторами тирозинкиназ (ИТК).

Цель работы: установить прогностическое значение полиморфных вариантов генов, участвующих в метаболизме ИТК: *CYP3A5* и *hOCT1* у больных ХМЛ в республике Башкортостан (РБ).

Материал и методы. Генетические исследования проведены у 114 больных с клинически и цитогенетически установленным диагнозом хронического миелолейкоза (ХМЛ). Мужчин было 55, женщин 59, медиана возраста составила 43 года (от 14 до 76 лет). Все больные получали лечение ИТК согласно национальным клиническим рекомендациям и критериям European Leukemia Net. Для сравнения больных с различной эффективностью лечения была сформирована группа из 64 больных, резистентных к проводимой терапии. Сравнимые группы были сопоставимы по полу и возрасту. Анализ полиморфных ДНК-локусов генов *hOCT1* и *CYP3A5* осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК и ПДРФ-анализом с последующим электрофорезом в 7–8 % полиакриламидном геле.

Результаты. Не было обнаружено выраженных различий в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs776746 гена изофермента *P3A5* цитохрома *p450* (*CYP3A5*) ($p > 0,05$) между больными ХМЛ, у которых была разная эффективность лечения ИТК. При сравнении распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs683369 в гене переносчике органических катионов (*hOCT1*) обнаружено, что генотип $*C^*C$ статистически значимо чаще выявлялся у больных с оптимальным ответом на лечение по сравнению с больными, резистентными к лечению. Частота встречаемости генотипа $*C^*G$ была почти в два раза выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии, — 42,86 %, по сравнению с группой больных с оптимальным ответом на лечение ИТК — 21,88 %.

Заключение. У больных ХМЛ исследование полиморфного локуса rs683369 гена *hOCT1* в отличие от rs776746 гена *CYP3A5* имеет прогностическое значение в оценке эффективности лечения ИТК. Частота встречаемости генотипа $*C^*G$ была значимо выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии ИТК, генотип G^*G^* встречался реже и был ассоциирован с наименьшей продолжительностью жизни, а наличие генотипа C^*C^* оказалось благоприятным для общей выживаемости больных.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, эпидемиология, мутации, полиморфизм генов *CYP3A5* и *hOCT1*, ингибиторы тирозинкиназ, резистентность, прогноз, выживаемость

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что данная работа, ее тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ: 18-29-14083 мк «Комплексное исследование проблемы правового регулирования вопросов пресимптоматической, пренатальной и преимплантационной ДНК-диагностики наследственных заболеваний человека».

Благодарность. Авторы благодарят гематологов республики Башкортостан за помощь в проведении исследования.

Для цитирования: Сафуанова Г.Ш., Рябчикова Н.Р., Хуснутдинова Э.К., Каримов Д.О., Миннихметов И.Р. Прогностическое значение полиморфных вариантов генов *CYP3A5* и *hOCT1* у больных хроническим миелолейкозом в Республике Башкортостан. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2): 165–174. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-165-174>

PROGNOSTIC VALUE OF *CYP3A5* AND *hOCT1* POLYMORPHIC GENE VARIANTS IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

Safuanova G. Sh.^{1,*}, Ryabchikova N. R.¹, Khusnutdinova E. K.², Karimov D. O.², Minniakhmetov I. R.^{2,4}

¹ Bashkir State Medical University, 450008, Ufa, Russian Federation

² Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 450054, Ufa, Russia

³ Ufa Scientific Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, 450106, Ufa, Russia

⁴ Republican Medical Genetic Centre, 450076, Ufa, Russia

ABSTRACT

Introduction. Patients suffering from chronic myeloid leukemia (CML) demonstrate various degrees of therapeutic effect after treatment using tyrosine kinase inhibitors (TKI). The response is determined by the presence or absence of mutations in the *BCR-ABL* gene, as well as by the mutation type.

Aim. To establish the prognostic value of polymorphic variants of genes involved in the metabolism of TKI — *CYP3A5* and *hOCT1* — in patients with CML in the Republic of Bashkortostan (RB).

Materials and methods. A series of genetic studies was performed in 114 patients with a clinically and cytogenetically established diagnosis of chronic myeloleukemia (CML), among whom 55 and 59 were men and women, respectively, with the median age of 43 years, from 14 to 76 years. All the patients received TKI treatment according to national clinical guidelines and European Leukemia Net criteria. In order to compare patients with different treatment efficiencies, a group of 64 patients resistant to the therapy was formed. The groups under comparison were similar in gender and age. An analysis of polymorphic DNA loci of the *hOCT1* and *CYP3A5* genes was carried out using polymerase chain reaction of DNA synthesis and RFLP analysis followed by electrophoresis in 7–8 % polyacrylamide gel.

Results. No significant differences were found in the frequency distribution of alleles and genotypes of the rs776746 polymorphic locus of the isoenzyme *P3A5* cytochrome *p450* (*CYP3A5*) gene ($p > 0.05$) between CML patients with different TKI treatment efficiencies. When comparing the frequency distribution of alleles and genotypes of the rs683369 polymorphic variant in the (*hOCT1*) organic cation carrier gene, the **C*C* genotype was established to be statistically significantly more frequent in patients with an optimal response to treatment compared to those treatment resistant. The frequency of occurrence of the **C*G* genotype was almost two times higher in CML patients resistant to therapy and comprised 42.86 %, compared to the group of patients with an optimal response to TKI treatment with the value of 21.88 %.

Conclusions. In CML patients, in contrast to rs776746 of the *CYP3A5* gene, the study of the rs683369 polymorphic locus of the *hOCT1* gene has a prognostic value for assessing the efficacy of TKI treatment. The frequency of occurrence of the **C*G* genotype was significantly higher in CML patients resistant to TKI therapy, while the *G*G** genotype was less common and associated with the shortest life expectancy. The presence of the *C*C** genotype was favourable for the overall survival of patients.

Keywords: chronic myeloleukemia, epidemiology, mutations, CYP3A5 and hOCT1 gene polymorphism, tyrosine kinase inhibitors, resistance, prognosis, survival

Conflict of interests: the authors declare that this work, its subject and content involve no competing interests.

Financial disclosure: this research was supported by the RFBR grant No. 18-29-14083 mk "A comprehensive study of the problem of legal regulation for issues of pre-symptomatic, prenatal and preimplantation DNA diagnostics of hereditary human diseases".

Acknowledgments. The authors express their sincere gratitude to the hematologists of the Republic of Bashkortostan for their assistance in conducting the study.

For citation: Safuanova G. Sh., Ryabchikova N.R., Khusnutdinova E.K., Karimov D.O., Minniakhmetov I.R. Prognostic value of CYP3A5 and hOCT1 polymorphic gene variants in patients with chronic myeloid leukemia in the republic of Bashkortostan. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(2):165–174 [in Russian]. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-165-174>

Введение

В настоящее время накоплено большое количество данных о распространенности, заболеваемости, принципах диагностики и лечения больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) [1]. Успехи терапии позволили существенно изменить продолжительность и качество жизни больных ХМЛ и даже добиваться их излечения [2]. Однако существует проблема развития резистентности и прогрессии заболевания [3–6]. Проводятся исследования по изучению молекулярно-генетических основ ХМЛ, прогноза эффективности таргетной терапии на основании биологических характеристик ХМЛ и понимания молекулярно-биологических механизмов развития резистентности лечения [7–10]. Показано, что при наличии мутаций у больных с ХМЛ в 20 % случаев могут встречаться дополнительные хромосомные aberrации или комплексные аномалии, что значительно ухудшает 10-летнюю выживаемость и летальность у больных ХМЛ по сравнению с больными, не имеющими этих нарушений [11].

ХМЛ возникает в результате приобретенного повреждения хромосомного аппарата одной полипотентной стволовой клетки костного мозга. Причина такого повреждения хромосом у больных ХМЛ пока остается неизвестной [12–15]. Механизмом, обуславливающим развитие заболевания, является реципрокная транслокация t(9;22), (q34;q11), объединяющая гены тирозинкиназы *ABL1* (хромосома 9) с геном *BCR* (хромосома 22) с образованием филадельфийской хромосомы (Ph+) [16]. При этом химерный белок BCR-ABL1 обладает выраженной тирозинкиназной активностью, блокирует апоптоз и стимулирует автономную пролиферацию клеток [14, 17, 18]. На долю ХМЛ приходится 20 % от всех лейкозов у больных в возрасте 30–70 лет [6]. Ежегодно в России регистрируется около 2500 новых случаев ХМЛ (1–2 случая на 100 тыс. населения) [19]. Стандартизованная заболеваемость по 6 регионам России составляет 0,7–0,8 случаев на 100 000 населения [20].

В исследованиях установлены очень хорошие результаты лечения ингибиторами тирозинкиназ (ИТК), если к 12 месяцам терапии ИТК 1 линии достигается оптимальный ответ, то дальнейшая прогрессия исключается [15, 21]. Однако по мере накопления ко-

личества наблюдений становится очевидным, что число больных с резистентностью к иматинибу увеличивается с каждым годом [22]. Примерно у 15–30 % больных ХМЛ наблюдается первичная или вторичная резистентность к лечению иматинибом мезила-том [23–27]. Учитывая, что у больных ХМЛ, в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в гене *BCR-ABL*, а также от типа мутаций, наблюдается различный терапевтический эффект на ИТК, актуальным является ранняя идентификация мутаций гена *BCR-ABL*, что позволяет своевременно определить факторы риска неблагоприятного прогноза течения заболевания, ответ на проводимую терапию и назначить адекватное лечение с целью получения ее максимальной эффективности [11]. Резистентность к терапии может проявляться и при отсутствии мутаций киназного домена, следовательно, есть необходимость изучения новых механизмов образования резистентного к лечению фенотипа, например генов, участвующих в метаболизме ИТК, наличия aberrантной экспрессии онкогенов и супрессоров опухолевого роста у больных ХМЛ [26, 28]. Поскольку в исследованиях, посвященных изучению однонуклеотидных полиморфизмов генов (SNR) при ХМЛ, чаще обнаруживалась ассоциация полиморфизма гена *CYP3A5* (rs 7776746) и гена *hOCT1* M408V (rs628031) с ответом на лечение иматинибом, была изучена связь этих полиморфизмов с резистентностью к терапии и общей выживаемостью больных в многонациональной Республике Башкортостан (РБ) [29–31]. Однако изучение влияния этногенетических особенностей больных на полученные результаты не проводилось в связи с малочисленностью выборки. Все это свидетельствует о необходимости продолжения исследований в этой области для более полного понимания патогенетических механизмов развития заболевания и персонализированного подхода к проводимому лечению в различных регионах.

Цель настоящей работы — установить прогностическое значение полиморфных вариантов генов, участвующих в метаболизме ИТК, *CYP3A5* и *hOCT1* у больных ХМЛ, и оценить их влияние на эффективность лечения и продолжительность жизни.

Материал и методы

В работе использованы образцы ДНК, выделенные из периферической крови 114 больных (55 мужчин и 59 женщин), проживающих в Республике Башкортостан, с клинически и цитогенетически установленным диагнозом ХМЛ. Все больные получали лечение препаратом ИТК согласно рекомендациям Европейского общества по лечению лейкозов European Leukemia Net (ELN) [15]. В группе больных, включенных в исследование, медиана возраста на момент постановки диагноза составила 43 года (от 14 до 76 лет). На момент исследования у 100 (87,7 %) больных была хроническая фаза ХМЛ, у 11 (9,6 %) больных — стадия акселерации и у 3 (2,6 %) больных — стадия бластного криза. Длительность терапии составила от 6 до 205 мес. (медиана — 65,5 мес.).

Для сравнения больных с различной эффективностью лечения была сформирована группа из 64 больных, резистентных к проводимой терапии. Отсутствие гематологического и цитогенетического ответов после 3, 6, 12 и 18 мес. лечения, а также субоптимальный ответ и потеря уже достигнутого гематологического и цитогенетического ответов рассматривались как проявления резистентности. В эту группу входили 30 (47%) мужчин и 34 (53%) женщины, средний возраст — 46 лет. Сравнимые группы были сопоставлены по полу и возрасту.

Исследование было одобрено этическим комитетом. Больные дали информированное согласие на участие в исследовании.

Анализ полиморфных ДНК-локусов генов *hOCT1* и *CYP3A5* осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК и ПДРФ-анализом с последующим электрофорезом в 7–8 % полиакриламидном геле.

Для определения полиморфных вариантов в генах *hOCT1* и *CYP3A5*, использовали метод полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Для амплификации использовали реакционную смесь объемом 25 мкл, которая содержала 2,5 мкл 10xTaq-буфера (67 mM трис-HCl (pH 8,8), 16,6 mM (NH₄)₂ SO₄, 2,5 mM MgCl₂, 0,01% Tween-20), 0,1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Termus aquaticus* (производства фирмы «Силекс», г. Москва) и 5–10 пМ локуспецифичных олигонуклеотидных праймеров. Результаты амплификации анализировали в 7 % полиакриламидном геле с последующей окраской в растворе бромистого этидия

(конечная концентрация 0,1 мкг/мл) и визуализацией в проходящем УФ-свете при длине волны 312 нм.

После амплификации 10 мкл амплификата обрабатывали 5 единицами соответствующей рестриктазы согласно рекомендациям производителя. Результаты рестрикционного анализа оценивали при проведении электрофореза в 7 % ПААГ с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализации под ультрафиолетовыми лучами. Данные о полиморфных вариантах и названия рестриктаз представлены в таблице 1.

Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Office Excel и пакета прикладных программ статистической программы Statistica 6.0 for Windows, SAS v.9.3. Для оценки продолжительности жизни в зависимости от генотипа полиморфных локусов генов *CYP3A5* и *hOCT1* был проведен анализ выживаемости методом Каплана — Мейера.

Результаты

При установлении диагноза у всех больных ХМЛ в РБ проведен анализ по критериям риска J. Sokal, Euro [2], с классификацией риска на низкий, промежуточный и высокий (табл. 2).

Таким образом, у больных ХМЛ в РБ выявлялся преимущественно низкий и промежуточный риск прогрессии заболевания. Наблюдение и лечение больных ХМЛ в РБ не выявило каких-либо региональных особенностей заболевания и соответствовало критериям ELN, что позволило организовать диагностику и лечение этой категории больных по общемировым стандартам.

Ранее было показано, что у некоторых больных ХМЛ в РБ мутации киназного домена гена *BCR-ABL* являются одной из основных причин резистентности к терапии иматинибом [10]. Больные с выявленными мутациями исключались из дальнейшего исследования полиморфных вариантов генов.

С целью изучения *BCR-ABL* независимых механизмов резистентности к лечению ИТК у больных ХМЛ в РБ проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs776746, локализованного в интроне 3 (chr7:99108475) гена изофермента P3A5 цитохрома p450 (*CYP3A5*) участвующего в фармакокинетики ИТК. Между больными с разной эффективностью лечения ИТК не было обнаружено выраженных

Таблица 1. Полиморфные варианты генов и названия рестриктаз, использованных при ПДРФ анализе

Table 1. Gene polymorphic variants of genes and restriction endonucleases applied for RFLP analysis

Ген, мкРНК Gene, microRNA	Полиморфный вариант, мутация Polymorphic variant, mutation	Рестриктаза Restriction Endonuclease
<i>hOCT1</i>	rs683369	Pdml (Fermentas)
<i>CYP3A5</i>	rs776746	Sspl (Fermentas)

Таблица 2. Структура больных ХМЛ по критериям риска
Table 2. Structure of patients with CML according to the risk criteria

Риск Risk	J. Sokal [2]		Euro [2]	
	абс. abs.	%	абс. abs.	%
Низкий риск Low-risk	63	34,3	120	65,2
Промежуточный риск Intermediate-risk	81	44,0	51	27,7
Высокий риск High-risk	40	21,7	13	7,1

Таблица 3. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs776746 в гене CYP3A5 у больных ХМЛ
Table 3. Frequency distribution for alleles and genotypes of the CYP3A5 gene rs776746 polymorphic locus in CML patients

Генотип, аллель Genotype, allele		Больные в целом Patients in total	Больные, резистентные к терапии ИТК Patients resistant to TKI therapy	Больные с оптимальным ответом на терапию ИТК Patients with optimal response to TKI therapy
G/G	n_i	81	46	27
	$p_i \pm s_p$	$71,68 \pm 4,24$	$71,88 \pm 5,62$	$73,68 \pm 7,14$
	$\chi^2(P)$		0,007 (0,92)	
G/A	n_i	32	18	11
	$p_i \pm s_p$	$28,32 \pm 4,24$	$28,12 \pm 5,62$	$28,95 \pm 7,36$
	$\chi^2(P)$		0,007 (0,92)	
A/A	n_i	0	0	0
	$p_i \pm s_p$	нет	нет	нет
	$\chi^2(P)$		нет	нет
G	N	113	64	38
	n_i	194	110	65
	$p_i \pm s_p$	$85,84 \pm 2,32$	$85,94 \pm 3,07$	$85,53 \pm 4,04$
	$\chi^2(P)$		0,006 (0,93)	
A	n_i	32	18	11
	$p_i \pm s_p$	$14,16 \pm 2,32$	$14,06 \pm 3,07$	$14,47 \pm 4,04$
	$\chi^2(P)$		0,006 (0,93)	

различий в распределении частот аллелей и генотипов данного полиморфного локуса ($p > 0,05$) (табл. 3).

Анализ распределения у больных ХМЛ частот генотипов полиморфного локуса rs776746 в гене CYP3A5 показал, что с наиболее высокой частотой (71,68 %) встречался гомозиготный генотип *G*G, гетерозиготный генотип *A*G определялся в 28,32 % случаев, гомозиготный генотип *A*A выявлен не был.

Для оценки продолжительности жизни в зависимости от генотипа полиморфного локуса rs776746 гена CYP3A5 был проведен анализ выживаемости с помощью метода Каплана — Мейера (рис. 1). Средняя продолжительность жизни у больных с генотипом GA составила $190,3 \pm 15,1$ мес., с генотипом GG — $154,9 \pm 7,2$ мес. Различия в продолжительности жизни не достигли уровня статистической значимости (лонг-ранг тест, $p = 0,755$).

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs683369 в гене переносчика органических катионов (*hOCT1*) между группами больных с разной эффективностью лечения ИТК показало, что генотип *C*C достоверно чаще выявлялся у боль-

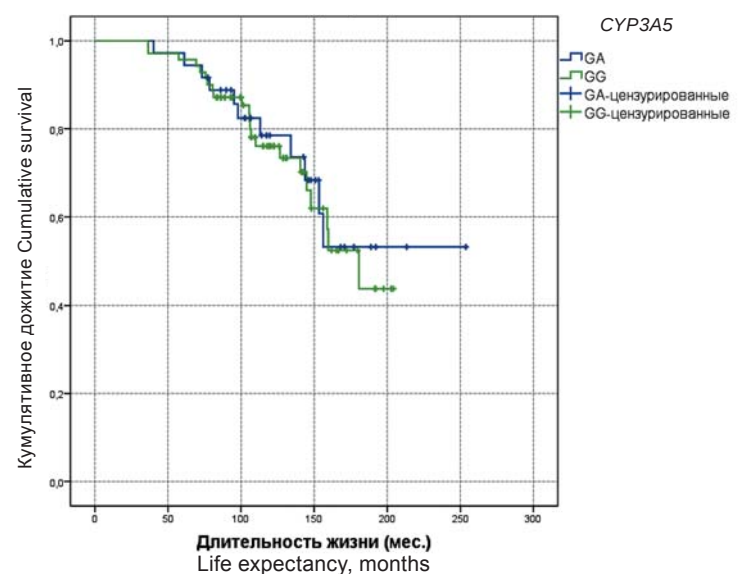


Рисунок 1. Общая выживаемость больных ХМЛ в зависимости от генотипа полиморфного локуса rs776746 гена CYP3A5

Figure 1. The overall survival of CML patients, depending on the genotype of the CYP3A5 gene rs776746 polymorphic locus

ных ХМЛ с оптимальным ответом на лечение — в 75,00 % случаев по сравнению с больными, резистентными к лечению — 53,57 % ($\chi^2 = 3,94$, $p = 0,04$, отношение шансов (ОШ) = 0,38; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,14–1,00) (рис. 2).

При сравнении распределения частоты встречаемости генотипа **C*G*, она оказалась почти в два раза выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии, — 42,86 % по сравнению с группой больных с оптимальным ответом на лечение ИТК — 21,88 % ($\chi^2 = 3,92$, $p = 0,04$, ОШ = 2,67 (95 % ДИ 0,99–7,21)).

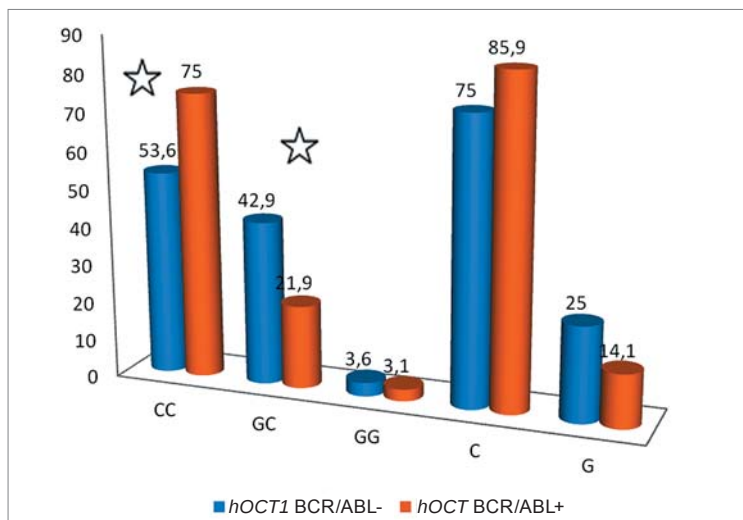


Рисунок 2. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs683369 гена *hOCT1* в выборке больных ХМЛ (больные, резистентные к терапии ИТК — BCR/ABL-; больные с оптимальным ответом на терапию ИТК — BCR/ABL+)

Figure 2. Frequency distribution for alleles and genotypes of the *hOCT1* gene rs683369 polymorphic variant in a group of CML patients (BCR/ABL- denotes patients resistant to treatment with TKI; BCR/ABL+ denotes patients with an optimal response to TKI treatment)

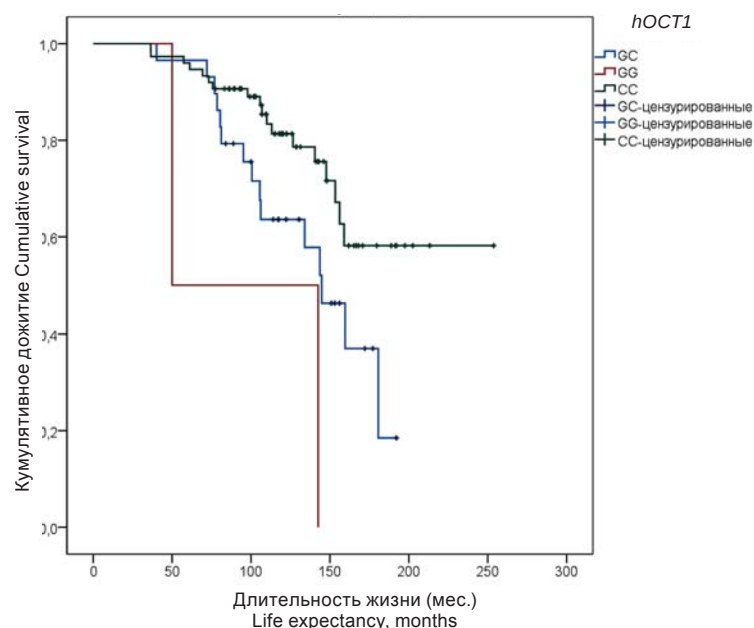


Рисунок 3. Общая выживаемость больных ХМЛ в зависимости от генотипа полиморфного локуса rs683369 гена *hOCT1*

Figure 3. The overall survival of CML patients, depending on the genotype of the *hOCT1* gene rs683369 polymorphic locus

При анализе выживаемости в зависимости от генотипа полиморфного локуса rs683369 гена *bOCT1* показаны статистически значимые различия (лонг-ранг тест, $p = 0,018$) (рис. 3).

Неблагоприятным для продолжительности жизни являлся генотип *GG*, средняя продолжительность жизни при его наличии составила $96,3 \pm 46,3$ мес. Продолжительность жизни у больных с генотипом *GC* занимала промежуточное значение $139,0 \pm 9,2$ мес. Наиболее благоприятным для прогноза являлся генотип *CC*, средняя длительность жизни при его наличии составляла $197,7 \pm 11,0$ мес.

Обсуждение

Проведенный анализ эпидемиологических данных в РБ за период 2000–2016 гг. показал, что зарегистрированная первичная заболеваемость ХМЛ в 2016 г. составила 0,44 на 100 000 всего населения и 1,01 на 100 000 взрослого населения. Средний показатель в РБ за последние 5 лет составил $0,62 \pm 0,10$ (по данным ВОЗ — 0,7). Заболеваемость имеет тенденцию к росту, распространенность за последние 8 лет выросла в 4 раза, что связано с возможностью выявления Ph-хромосомы и/или гена *BCR-ABL*, созданием и ведением регистра больных ХМЛ с 2008 г., внедрением терапии ИТК и, как следствие, увеличением продолжительности жизни больных. Показатели смертности имеют лишь тенденцию к снижению за исследуемый период времени [32]. Данные результаты свидетельствуют о том, что существует группа больных, резистентных к терапии ИТК, и прогрессия заболевания даже при проведении терапии приводит к их гибели. Авторы из Вьетнама показали, что применение ИТК нивелирует влияние классических прогностических факторов и требует разработки новых подходов к оценке риска для больных ХМЛ [33]. Поэтому поиск причин неудачи лечения и преодоления резистентности терапии ИТК остается актуальной проблемой рутинной практики не только в целом, но и в различных регионах. Примерно у 20–30 % больных выявляется резистентность к иматинибу [25]. Возникновение устойчивости к ИТК является следствием взаимодействия многих факторов. Эти факторы включают в себя схему лечения, фармакодинамику ИТК, генетические изменения, мутации *BCR-ABL* киназного домена или комбинацию из этих факторов [25]. Установление частоты встречаемости мутаций и их комбинаций позволяет на ранних этапах переключаться на новые схемы лечения [6–8, 11]. Проведенные ранее исследования 50 больных ХМЛ в РБ, резистентных к иматинибу, подтвердили, что мутации киназного домена гена *BCR-ABL* являются одной из основных причин резистентности. У 32 % больных, резистентных к терапии ИТК, с высоким уровнем экспрессии гена *BCR-ABL* в РБ выявлялись такие мутации киназного домена гена *BCR-ABL*, как: *M244V* — 2 %, *T315I* — 17 %, *L248Q* — 17 %, *F317L* — 17 %, *E255K* — 17 %, *S293N* — 17 %, *K245R* — 17 %, *N246Y* — 17 %, *D276G* — 17 %, *G250A* — 17 %, *V299L* — 17 %, *I315V* — 17 %, *A246T* — 17 %, *P252S* — 17 %, *R246Q* — 17 %, *T315M* — 17 %, *T315D* — 17 %, *T315E* — 17 %, *T315N* — 17 %, *T315K* — 17 %, *T315R* — 17 %, *T315L* — 17 %, *T315P* — 17 %, *T315A* — 17 %, *T315H* — 17 %, *T315G* — 17 %, *T315C* — 17 %, *T315F* — 17 %, *T315Q* — 17 %, *T315W* — 17 %, *T315Y* — 17 %, *T315V* — 17 %, *T315I* — 17 %, *T315L* — 17 %, *T315M* — 17 %, *T315N* — 17 %, *T315O* — 17 %, *T315P* — 17 %, *T315Q* — 17 %, *T315R* — 17 %, *T315S* — 17 %, *T315T* — 17 %, *T315U* — 17 %, *T315V* — 17 %, *T315W* — 17 %, *T315X* — 17 %, *T315Y* — 17 %, *T315Z* — 17 %, *T315AA* — 17 %, *T315AB* — 17 %, *T315AC* — 17 %, *T315AD* — 17 %, *T315AE* — 17 %, *T315AF* — 17 %, *T315AG* — 17 %, *T315AH* — 17 %, *T315AI* — 17 %, *T315AJ* — 17 %, *T315AK* — 17 %, *T315AL* — 17 %, *T315AM* — 17 %, *T315AN* — 17 %, *T315AO* — 17 %, *T315AP* — 17 %, *T315AQ* — 17 %, *T315AR* — 17 %, *T315AS* — 17 %, *T315AT* — 17 %, *T315AU* — 17 %, *T315AV* — 17 %, *T315AW* — 17 %, *T315AX* — 17 %, *T315AY* — 17 %, *T315AZ* — 17 %, *T315BA* — 17 %, *T315BB* — 17 %, *T315BC* — 17 %, *T315BD* — 17 %, *T315BE* — 17 %, *T315BF* — 17 %, *T315BG* — 17 %, *T315BH* — 17 %, *T315BI* — 17 %, *T315BJ* — 17 %, *T315BK* — 17 %, *T315BL* — 17 %, *T315BM* — 17 %, *T315BN* — 17 %, *T315BO* — 17 %, *T315BP* — 17 %, *T315BQ* — 17 %, *T315BR* — 17 %, *T315BS* — 17 %, *T315BT* — 17 %, *T315BU* — 17 %, *T315BV* — 17 %, *T315BW* — 17 %, *T315BX* — 17 %, *T315BY* — 17 %, *T315BZ* — 17 %, *T315CA* — 17 %, *T315CB* — 17 %, *T315CC* — 17 %, *T315CD* — 17 %, *T315CE* — 17 %, *T315CF* — 17 %, *T315CG* — 17 %, *T315CH* — 17 %, *T315CI* — 17 %, *T315CJ* — 17 %, *T315CK* — 17 %, *T315CL* — 17 %, *T315CM* — 17 %, *T315CN* — 17 %, *T315CO* — 17 %, *T315CP* — 17 %, *T315CQ* — 17 %, *T315CR* — 17 %, *T315CS* — 17 %, *T315CT* — 17 %, *T315CU* — 17 %, *T315CV* — 17 %, *T315CW* — 17 %, *T315CX* — 17 %, *T315CY* — 17 %, *T315CZ* — 17 %, *T315DA* — 17 %, *T315DB* — 17 %, *T315DC* — 17 %, *T315DD* — 17 %, *T315DE* — 17 %, *T315DF* — 17 %, *T315DG* — 17 %, *T315DH* — 17 %, *T315DI* — 17 %, *T315DJ* — 17 %, *T315DK* — 17 %, *T315DL* — 17 %, *T315DM* — 17 %, *T315DN* — 17 %, *T315DO* — 17 %, *T315DP* — 17 %, *T315DQ* — 17 %, *T315DR* — 17 %, *T315DS* — 17 %, *T315DT* — 17 %, *T315DU* — 17 %, *T315DV* — 17 %, *T315DW* — 17 %, *T315DX* — 17 %, *T315DY* — 17 %, *T315DZ* — 17 %, *T315EA* — 17 %, *T315EB* — 17 %, *T315EC* — 17 %, *T315ED* — 17 %, *T315EE* — 17 %, *T315EF* — 17 %, *T315EG* — 17 %, *T315EH* — 17 %, *T315EI* — 17 %, *T315EJ* — 17 %, *T315EK* — 17 %, *T315EL* — 17 %, *T315EM* — 17 %, *T315EN* — 17 %, *T315EO* — 17 %, *T315EP* — 17 %, *T315EQ* — 17 %, *T315ER* — 17 %, *T315ES* — 17 %, *T315ET* — 17 %, *T315EU* — 17 %, *T315EV* — 17 %, *T315EW* — 17 %, *T315EX* — 17 %, *T315EY* — 17 %, *T315EZ* — 17 %, *T315FA* — 17 %, *T315FB* — 17 %, *T315FC* — 17 %, *T315FD* — 17 %, *T315FE* — 17 %, *T315FF* — 17 %, *T315FG* — 17 %, *T315FH* — 17 %, *T315FI* — 17 %, *T315FJ* — 17 %, *T315FK* — 17 %, *T315FL* — 17 %, *T315FM* — 17 %, *T315FN* — 17 %, *T315FO* — 17 %, *T315FP* — 17 %, *T315FQ* — 17 %, *T315FR* — 17 %, *T315FS* — 17 %, *T315FT* — 17 %, *T315FU* — 17 %, *T315FV* — 17 %, *T315FW* — 17 %, *T315FX* — 17 %, *T315FY* — 17 %, *T315FZ* — 17 %, *T315GA* — 17 %, *T315GB* — 17 %, *T315GC* — 17 %, *T315GD* — 17 %, *T315GE* — 17 %, *T315GF* — 17 %, *T315GG* — 17 %, *T315GH* — 17 %, *T315GI* — 17 %, *T315GJ* — 17 %, *T315GK* — 17 %, *T315GL* — 17 %, *T315GM* — 17 %, *T315GN* — 17 %, *T315GO* — 17 %, *T315GP* — 17 %, *T315GQ* — 17 %, *T315GR* — 17 %, *T315GS* — 17 %, *T315GT* — 17 %, *T315GU* — 17 %, *T315GV* — 17 %, *T315GW* — 17 %, *T315GX* — 17 %, *T315GY* — 17 %, *T315GZ* — 17 %, *T315HA*

M351T — 20 % и *H396R* — 2 %. Наиболее высокий (медиана экспрессии 442,3 %) средний уровень экспрессии химерного гена наблюдался у больных с компанд-мутацией *T315I + M351T* — 9 %, а также больных с мутацией *M351T* (медиана экспрессии 94,6 %). Причем мутация *M351T* являлась самой распространенной мутацией [9]. По данным литературы [18], частота мутации *M351T* у больных ХМЛ в Германии составляет только 6 %, в Италии и Австралии — до 11 %. В обзоре, посвященном *BCR-ABL* зависимым и независимым механизмам резистентности к лечению ИТК, Е.Ж. Jabbou и соавт. [34] ставят задачи по разработке стратегии лечения при первичной и вторичной устойчивости к современным методам лечения.

Межиндивидуальная вариабельность ответа на лечение среди больных ХМЛ привела к поиску механизмов, ответственных за такую вариабельность. Изучаются *BCR-ABL* независимые механизмы резистентности к лечению ИТК. D. Kim и соавт. [29] показали, что, используя новый подход с оценкой нескольких ген-кандидатов, основываясь на фармакогенетике иматиниба, можно предсказать результаты лечения. В этом исследовании проведен скрининг 16 однонуклеотидных полиморфизмов (SNR) в 5 генах у 229 больных ХМЛ. Установлено, что генотип GG в *ABCG2* (rs2231137), генотип AA в *CYP3A5* (rs 7776746) были в значительной степени ассоциированы с неэффективным лечением иматинибом, а генотип GG в *SLC22A2* (rs683369) в поздней стадии коррелировал с высоким уровнем потери ответа или неудачей терапии [30]. У больных из Малайзии, у которых был выявлен гетерозиготный AG и гомозиготный вариант GG генотипа *CYP3A5*, был значительно меньше риск развития резистентности к иматинибу [35]. Другие авторы [31] в когорте 106 больных ХМЛ показали, что два полиморфизма гена *CYP3A5* (rs 7776746) и гена *hOCT1* M408V (rs628031) были достоверно связаны с полным цитогенетическим ответом (ПЦГО) через 6 месяцев и полным молекулярным ответом (ПМО) через 12 месяцев лечения. N.A. Named и соавт. [32] не нашли ассоциации полиморфизма гена *hOCT1* C480G с ответом на лечение у больных из Египта. В следующем исследовании генотип $*G^{*}G$ (480C>G (F160L), rs683369) в гене *hOCT1* при прогрессии ХМЛ коррелировал с высокой вероятностью появления ре-

зистентности к терапии [29]. M. Gromicho и соавт. [23] обнаружили, что в большинстве изученных ими резистентных клеточных линий были сверхэкспрессированы несколько белков переносчиков, а именно ABCB1, ABCG2, MVP и hOCT-1.

Несмотря на большое число опубликованных статей, посвященных исследованию полиморфизма генов, участвующих в фармакогенетике и фармакодинамике ИТК, неоптимальным ответом больных ХМЛ на таргетную терапию ИТК, до сих пор точно не известно, какой из них является самым решающим для приобретения резистентности клетками ХМЛ к иматинибу. В настоящем исследовании, в отличие от литературных данных, в выборке больных из РБ не встречался генотип AA в *CYP3A5* (rs 7776746), ассоциированный с резистентностью к ИТК, а между больными с разной эффективностью лечения ИТК не было обнаружено достоверных изменений в распределении частот аллелей и генотипов *CYP3A5*. Распределение частот генотипов полиморфного варианта rs683369 в гене переносчике органических катионов (*hOCT1*) между группами больных с разной эффективностью лечения ИТК показало, что генотип $G^{*}G^{*}$ встречался редко и также был ассоциирован с наименьшей продолжительностью жизни больных, генотип $*C^{*}C$ достоверно чаще выявлялся у больных ХМЛ с оптимальным ответом на лечение по сравнению с больными, резистентными к лечению. Частота встречаемости генотипа $*C^{*}G$ была почти в два раза выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии ИТК. Изучение клинко-генетических ассоциаций при ХМЛ позволяет уточнить некоторые механизмы развития резистентности к терапии в разных регионах, совершенствовать индивидуализированный подход при выборе лечебной тактики и в общем прогнозе заболевания.

Таким образом, исследование полиморфного локуса rs683369 гена *hOCT1* в отличие от rs776746 гена *CYP3A5* имеет прогностическое значение в оценке эффективности лечения ИТК больных ХМЛ в РБ. Частота встречаемости генотипа $*C^{*}G$ была значимо выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии ИТК, генотип $G^{*}G^{*}$ встречался реже и был ассоциирован с наименьшей продолжительностью жизни, а наличие генотипа $C^{*}C^{*}$ оказалось благоприятным для общей выживаемости больных.

Литература

1. Абдулкадыров К.М., Абдуллаев А.О., Авдеева Л.Б. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и терапии хронического миелолейкоза. Вестник гематологии. 2013; 9(3): 4–40.
2. Туркина А.Г., Зарицкий А.Ю., Шуваев В.А. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению хронического миелолейкоза. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. 2017; 10.3: 294–316.
3. Челышева Е.Ю., Шухов О.А., Лазарева О.В. Мутации гена BCR-ABL при хроническом миелоидном лейкозе. Клиническая онкогематология. 2012; 5: 13–21.

References

1. Abdulkadyrov C.M., Abdullaev A.O., Avdeeva L.B., et al. Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of chronic myeloid leukemia. Vestnik gematologii. 2013; 9(3): 4–40 (In Russian).
2. Turkina A.G., Zaritsky A.Y., Shuvaev V.A., et al. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of chronic myeloid leukemia. Klinicheskaya onkologematologiya. 2017; 10(3): 294–316 (In Russian).
3. Chelysheva E.I., Shukhov O.A., Lazarev O.V. BCR-ABL gene mutations in chronic myeloid leukemia. Klinicheskaya onkologematologiya. 2012; 5: 13–21 (In Russian).

4. Виноградова О.Ю., Куликов С.М., Куцев С.М. Проблемы организации лечения хронического миелолейкоза в России. Клиническая онкогематология. 2011; 4.4: 292–7.
5. Туркина А.Г., Голеньков А.К., Напсо Л.И. и др. Российский регистр по лечению хронического миелоидного лейкоза в рутинной клинической практике: итоги многолетней работы. Эффективная фармакотерапия. 2015; 10: 8–13.
6. Corbin A.S., La Rose P., Stoffregen E.P., et al. Several BCR-ABL kinase domain mutants associated with imatinib mesylate resistance remain sensitive to imatinib. *Blood*. 2003; 101(11): 4611–4.
7. Куцев С.И., Васильченко М.В., Морданов С.В. Роль мутаций гена BCR-ABL в развитии рефрактерности к иматинибу у пациентов с хроническим миелолейкозом. Клиническая онкогематология. 2009; 1.4: 303–9.
8. Виноградова О.Ю., Асеева Е.А., Воронцова А.В. и др. Влияние различных хромосомных аномалий в Ph-позитивных клетках костного мозга на течение хронического миелолейкоза при терапии ингибиторами тирозинкиназ. Онкогематология. 2012; 4: 24–34.
9. Рябчикова Н.Р., Миннихметов И.Р., Сафуанова Г.Ш. и др. Хронический миелолейкоз: молекулярный мониторинг в клинической практике. Онкогематология. 2013; 1: 1–16.
10. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., et al. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia 2013. *Blood*. 2013; 122(6): 872–84. DOI: 10.1182/ Blood -2013-05:501-569
11. Фоминых М.С., Абдулкадыров К.М., Туркина А.Г. и др. Персонализация терапии хронического миелолейкоза — прогностическое значение индивидуальной динамики уровня BCR-ABL. Гематология и трансфузиология. 2016; 6.1: 4–10.
12. Туркина А.Г., Челышева Е.Ю. Стратегия терапии хронического миелолейкоза: возможности и перспективы. Терапевтический архив. 2013; 85(7): 4–9.
13. Руквицин О.А. (редактор) Гематология: национальное руководство. М.: ГОЭТАР Медиа; 2015.
14. Абдулкадыров К.М., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. и др. Хронический миелолейкоз: многолетний опыт таргетной терапии. Клиническая онкогематология. 2016; 9: 54–60.
15. Baccarani M., Cortes J., Pane F., et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European Leukemia Net. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 6041–51.
16. Druker D.J., Guilhot F., O'Brien S.G., et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2006; 355: 2408–17. DOI: 10.1056/NEJMoa062867
17. Волкова М.А. Терапия хронических лейкозов в 21 веке. Эффективная фармакотерапия в онкологии, гематологии и радиологии. 2009; 2: 2–7.
18. Branford S., Seymour J.F., Grigg A.A., et al. BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria. *Clin. Cancer Res*. 2007; 13 (23): 7080–5.
19. Волкова С.А., Ковалишина О.В., Гостюжова Е.А. и др. Эффект от терапии иматинибом по данным клинико-эпидемиологического мониторинга хронического миелолейкоза в Нижегородской области за период 2000–2010 гг. Гематология и трансфузиология. 2011; 56(4): 17–9.
20. Куликов С.М., Виноградова О.Ю., Челышева Е.Ю. и др. Заболеваемость хроническим миелолейкозом в регионах России по данным популяционного исследования 2009–2012. Терапевтический архив. 2014; 86(7): 24–30.
21. Branford S. Monitoring after successful therapy for chronic myeloid leukemia. *ASH Annual Meeting and Exposition*. 2012; 105–110.
4. Vinogradova O.Y., Kulikov S.M., Kutsev S.M. Problems of the organization of chronic myeloid leukemia therapy in the Russian Federation. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2011; 4.4: 292–7 (In Russian).
5. Turkina A.G., Golenkov A.K., Napso L.I., et al. Chronic myeloid leukemia Russian register in routine clinical practice: results of the multi-year work. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2015; 10: 8–13 (In Russian).
6. Corbin A.S., La Rose P., Stoffregen E.P., et al. Several BCR-ABL kinase domain mutants associated with imatinib mesylate resistance remain sensitive to imatinib. *Blood*. 2003; 101(11): 4611–4.
7. Kutsev S.I., Vasilchenko M.V., Mordanov S.V. The role of BCR-ABL mutations in the development of imatinib refractoriness in patients with chronic myeloid leukemia. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2009; 1(4): 303–9 (In Russian).
8. Vinogradova O.Y., Aseeva E.A., Vorontsov A.V., et al. Effect of various chromosomal abnormalities in Ph-positive bone marrow cells on the course of chronic myeloid leukemia during therapy with tyrosine kinase inhibitors. *Onkogematologiya*. 2012; 4: 24–34 (In Russian).
9. Ryabchikova H.P., Minniakhmetov I.R., Safuanova G.S., et al. Chronic myeloid leukemia: molecular monitoring in clinical practice. *Onkogematologiya*. 2013; 1: 1–16 (In Russian).
10. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., et al. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia 2013. *Blood*. 2013; 122(6): 872–84. DOI: 10.1182/ Blood -2013-05:501-569
11. Fominykh M.S., Abdulkadyrov K.M., Turkina A.G., et al. Personalization of therapy for chronic myeloid leukemia is the prognostic value of the individual dynamics of BCR-ABL level. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2016; 6(1): 4–10 (In Russian).
12. Turkina A.G., Chelysheva E.Y. Therapy strategy for chronic myeloid leukemia: opportunities and prospects. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2013; 85(7): 4–9 (In Russian).
13. Rukovitsin O.A. (editor) Hematology: national leadership. Moscow: GOETAR Media; 2015 (In Russian).
14. Abdulkadyrov K.M., Shuvaev V.A., Martynkevich I.S., et al. Chronic myeloid leukemia: many years of experience with targeted therapy. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2016; 9: 54–60 (In Russian).
15. Baccarani M., Cortes J., Pane F., et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European Leukemia Net. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 6041–51.
16. Druker D.J., Guilhot F., O'Brien S.G., et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2006; 355: 2408–17. DOI: 10.1056/NEJMoa062867
17. Volkova M.A. Therapy of chronic leukemia in the 21st century. *Effektivnaya farmakoterapiya v onkologii, gematologii i radiologii*. 2009; 2: 2–7 (In Russian).
18. Branford S., Seymour J.F., Grigg A.A., et al. BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria. *Clin. Cancer Res*. 2007; 13(23): 7080–5.
19. Volkova S.A., Kovalishina O.V., Gostuzhova E.A., et al. Efficiency of imatinib therapy: summing up the results of clinical epidemiological monitoring of chronic myeloid leukemia in the Country to Nizhny Novgorod over the period of 2000–2010. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2011; 56(4): 17–9 (In Russian).
20. Kulikov S.M., Vinogradova O.Y., Chelysheva E.Y., et al. Incidence of chronic myeloid leukemia in 6 regions of Russia according to the data of the 2009–2012 population-based study. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2014; 86(7): 24–30 (In Russian).
21. Branford S. Monitoring after successful therapy for chronic myeloid leukemia. *ASH Annual Meeting and Exposition*. 2012; 105–110.

22. Мисюрин А.В., Мисюрина Е.Н., Тихонова В.В. и др. Частота встречаемости мутаций киназного домена гена BCR-ABL у больных хроническим миелолейкозом, резистентных к терапии иматинибом. Российский биотерапевтический журнал. 2016; 15(4): 102–9.
23. Gromicho M., Dinis D.J., Magalhaes M.M., et al. Development of imatinib and dasatinib resistance: dynamics of expression of drug transporters ABCB1, ABCC1, ABCG2, MVP, and SLC22A1. *Leukemia Lymphoma*. 2011; 52(10): 1980–90.
24. Тихонова В.В., Исаков М.А., Мисюрин В.А. Резистентность хронического миелолейкоза к ингибиторам тирозинкиназ: 10 лет изучения профиля мутаций гена BCR-ABL в России (2006–2016 гг.). Клиническая онкогематология. 2018; 11: 227–33.
25. Quintas-Cardama A., Kantarjian H., Cortes J. Mechanisms of Primary and Secondary Resistance to Imatinib in Chronic Myeloid Leukemia. *Cancer Control*. 2009; 16(2): 122–31.
26. Шуваев В.А., Абдукадыров К.М., Мартынкевич И.С., Фоминых М.С. Выбор терапии первой линии хронического миелолейкоза: моделирование клинико-экономических факторов. Клиническая онкогематология. 2015; 8.1: 78–83.
27. Mahon F.X. Discontinuation of tyrosine kinase therapy in CML. *Ann Hematol*. 2015; 94(2): 187. DOI: 10.1007/s00277-015-2320-4
28. Копнин Б.П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены. Канцерогенез. 2004; 125–56.
29. Kim D., Sriharsha L., Xu W., et al. Clinical Relevance of a Pharmacogenetic Approach Using Multiple Candidate Genes to Predict Response and Resistance to Imatinib Therapy in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2009; 15(14): 4750–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0145
30. Vaidya S., Ghosh K., Shanmukhaiah C., Vundinti B.R. Genetic variations of hOCT1 gene and CYP3A4/A5 genes and their association with imatinib response in Chronic Myeloid Leukemia. *European Journal of Pharmacology*. 2015; 765(15): 124–30. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.08.034
31. Hamed N.A., Ghanem A.M., Neanea H., Maha M.A. Polymorphism of Human Organic Cationic Transporter 1 (C80G) in Egyptian Chronic Myeloid Leukemia Patients on Imatinib. *Am J Mol Biol*. 2018; 08 (02): 83–91. DOI: 10.4236/ajmb.2018.82007
32. Рябчикова Н.Р., Сафуанова Г.Ш., Никуличева В.И. Эпидемиология хронического миелолейкоза в Республике Башкортостан. Клиническая онкогематология. 2018; 11: 349–53. DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-4-349-353
33. Nguyen H.T., Nguyen A.T., Nguyen T.T., et al. Results of treatment of chronic myeloid leukemia with imatinib from the Vietnam National Institute of Hematology and Blood Transfusiology. *Hematology and transfusiology*. 2018; 63(10): 31–43. DOI: 10.258337/HAT.2018.26..1..003
34. Jabbour E.J., Cortes J.E., Kantarjian H.M. Resistance to Tyrosine Kinase Inhibition Therapy for Chronic Myelogenous Leukemia: A Clinical Perspective and Emerging Treatment Options. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2013; 13(5): 515–529. DOI: 10.1016/j.clml.2013.03.018
35. Maddin N., Husin A., Gan S.H., et al. Impact of CYP3A4*18 and CYP3A5*3 Polymorphisms on Imatinib Mesylate Response Among Chronic Myeloid Leukemia Patients in Malaysia. *Oncol Ther*. 2016; 4: 303–14. DOI: 10.1007/s40487-016-0035-x
36. Адильгереева Э.П., Лавров А.В., Смирнихина С.А. и др. Поиск новых маркеров эффективности терапии ингибиторами тирозинкиназ при хроническом миелолейкозе методом полноэкзомного секвенирования. Гематология и трансфузиология. 2018; 63(2): 134–43. DOI: 10.25837/HAT.2018.61..2..004
22. Misyurin A.V., Misyurina E.N., Tikhonova V.V., et al. The frequency of occurrence of mutations in the kinase domain of the BCR-ABL gene in patients with chronic myeloid leukemia resistant to imatinib therapy. *Rossiiskij bioterapevicheskij zhurnal*. 2016; 15(4): 102–9 (In Russian).
23. Gromicho M., Dinis D.J., Magalhaes M.M., et al. Development of imatinib and dasatinib resistance: dynamics of expression of drug transporters ABCB1, ABCC1, ABCG2, MVP, and SLC22A1. *Leukemia Lymphoma*. 2011; 52(10): 1980–90.
24. Tikhonova V.V., Isakov M.A., Misyurin V.A. Resistance of chronic myeloid leukemia to tyrosine kinase inhibitors: 10 years of studying the mutation profile of the BCR-ABL gene in Russia (2006–2016)]. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2018; 11(3): 227–33 (In Russian).
25. Quintas-Cardama A., Kantarjian H., Cortes J. Mechanisms of Primary and Secondary Resistance to Imatinib in Chronic Myeloid Leukemia. *Cancer Control*. 2009; 16(2): 122–31.
26. Shuvaev V.A., Abdukadyrov K.M., Martynkevich I.S., Fominykh M.S. The choice of first line treatment of chronic myeloid leukemia: modeling of clinical and economic factors. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2015; 8 (1): 78–83 (In Russian).
27. Mahon F.X. Discontinuation of tyrosine kinase therapy in CML. *Ann Hematol*. 2015; 94(2): 187. DOI: 10.1007/s00277-015-2320-4
28. Kopnin B.P. Tumor suppressors and mutator genes. *Kancerogenez*. 2004; 125–56 (In Russian).
29. Kim D., Sriharsha L., Xu W., et al. Clinical Relevance of a Pharmacogenetic Approach Using Multiple Candidate Genes to Predict Response and Resistance to Imatinib Therapy in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2009; 15(14): 4750–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0145
30. Vaidya S., Ghosh K., Shanmukhaiah C., Vundinti B.R. Genetic variations of hOCT1 gene and CYP3A4/A5 genes and their association with imatinib response in Chronic Myeloid Leukemia. *European Journal of Pharmacology*. 2015; 765(15): 124–30. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.08.034
31. Hamed N.A., Ghanem A.M., Neanea H., Maha M.A. Polymorphism of Human Organic Cationic Transporter 1 (C80G) in Egyptian Chronic Myeloid Leukemia Patients on Imatinib. *American Journal of Molecular Biology*. 2018; 08(02): 83–91. DOI: 10.4236/ajmb.2018.82007
32. Ryabchikova N.R., Safuanova G.Sh., Nikulicheva V.I. Epidemiology of chronic myeloid leukemia in the Republic of Bashkortostan. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2018; 11: 349–53 (In Russian). DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-4-349-353
33. Nguyen H.T., Nguyen A.T., Nguyen T.T., et al. Results of treatment of chronic myeloid leukemia with imatinib from the Vietnam National Institute of Hematology and Blood Transfusiology. *Hematology and transfusiology*. 2018; 63(10): 31–43. DOI: 10.258337/HAT.2018.26..1..003
34. Jabbour E.J., Cortes J.E., Kantarjian H.M. Resistance to Tyrosine Kinase Inhibition Therapy for Chronic Myelogenous Leukemia: A Clinical Perspective and Emerging Treatment Options. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2013; 13(5): 515–29. DOI: 10.1016/j.clml.2013.03.018
35. Maddin N., Husin A., Gan S.H., et al. Impact of CYP3A4*18 and CYP3A5*3 Polymorphisms on Imatinib Mesylate Response Among Chronic Myeloid Leukemia Patients in Malaysia. *Oncol Ther*. 2016; 4: 303–14. DOI: 10.1007/s40487-016-0035-x
36. Adilgerreyeva E.P., Lavrov A.V., Smirnihina S.A., et al. Search for new markers of the effectiveness of therapy with tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloleukemia using full-excome sequencing. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2018; 63(2): 134–43 (In Russian). DOI: 10.25837 / HAT.2018.61..2..004

Информация об авторах

Сафуанова Гузаль Шагбановна*, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой терапии и общей врачебной практики с курсом гериатрии ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: SafuanovaGSH@gmail.com; 450005, г Уфа, ул. Достоевского, 132. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2627-0626>

Рябчикова Наира Рафаэлевна, ассистент кафедры терапии и общей врачебной практики с курсом гериатрии ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: naira_mail@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8836-3890>

Хуснутдинова Эльза Камилевна, доктор биологических наук, и.о. директора «Института биохимии и генетики» — обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук», e-mail: elzakh@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>

Каримов Денис Олегович, кандидат биологических наук, заведующий отделом токсикологии и генетики с клиникой экспериментальных животных ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», e-mail: karimovdo@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757>

Миннихметов Ильдар Рамилевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека «Института биохимии и генетики» — обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук», и ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр», e-mail: Floyd12@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7045-8215>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 20.02.2019

Принята к печати: 14.05.2019

Information about the authors

Guzyal Sh. Safuanova*, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Therapy and General Medical Practice with a Course of Geriatrics, Bashkir State Medical University, e-mail: SafuanovaGSH@gmail.com; 450005, Ufa, Dostoevskogo str., 132. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2627-0626>

Naira R. Ryabchikova, Researcher, Department of Therapy and General Medical Practice with a Course of Geriatrics, Bashkir State Medical University, e-mail: naira_mail@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8836-3890>

Elsa K. Khusnutdinova, Dr. Sci. (Biol.), Acting Director, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, e-mail: elzakh@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>

Denis O. Karimov, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Department of Toxicology and Genetics with an Experimental Animal Clinic, Ufa Scientific Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, e-mail: karimovdo@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757>

Ildar R. Minniakhmetov, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Human Molecular Genetics, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Republican Medical Genetic Centre, e-mail: Floyd12@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7045-8215>

*** Corresponding author**

Received 20 Feb 2019

Accepted 14 May 2019

ОЦЕНКА *HLA*-СОВМЕСТИМОСТИ И ТРЕБОВАНИЯ К *HLA*-ТИПИРОВАНИЮ БОЛЬНОГО И ДОНОРА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Хамаганова Е. Г.*, Кузьмина Л. А.

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Имеется потребность в унификации руководств и стандартов по требованиям к *HLA*-типированию и оценке степени *HLA*-совместимости больного и донора при разных видах трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).

Цель обзора — привести современные требования по *HLA*-типированию больного и донора при алло-ТГСК и рекомендации по оценке необходимой степени совместимости больного и того или иного донора, а также данные о некоторых дополнительных иммуногенетических факторах, которые могут способствовать улучшению результатов трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Алло-ТГСК является эффективным, а в ряде случаев безальтернативным методом лечения многих заболеваний системы крови. Число алло-ТГСК в мире постоянно растет. В настоящее время донор аллогенных гемопоэтических стволовых клеток может быть подобран практически для каждого больного с показаниями к этому виду терапии — *HLA*-идентичный сиблинг, *HLA*-совместимый неродственный донор, частично *HLA*-совместимый неродственный донор, родственный гаплоидентичный донор, пуповинная кровь. *HLA*-совместимость больного и донора является важным фактором, влияющим на результаты алло-ТГСК. При выборе донора необходима правильная оценка степени *HLA*-совместимости между больным и донором, а также учет дополнительных факторов, которые могут влиять на результаты трансплантаций аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Ключевые слова: трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, доноры, реципиенты, *HLA*-типирование, оценка совместимости, обзор

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: 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): 175–187. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-175-187>

ASSESSMENT OF *HLA*-COMPATIBILITY AND REQUIREMENTS FOR *HLA*-TYPING OF PATIENT AND DONOR IN ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Khamaganova E. G.*, Kuzmina L. A.

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

ABSTRACT

Introduction. Unification of guidelines and standards concerning requirements for *HLA* typing and assessment of the degree of *HLA* match between the recipient and the donor for different types of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) is of a great importance.

Aim. To present contemporary requirements for the *HLA* typing of a recipient and a donor for allo-HSCT, to generalize recommendations for assessing a required match degree of a recipient and a donor and to provide data on additional immunogenetic factors capable of improving the results of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

General findings. Allo-HSCT appears to be an effective, and, in some cases, non-alternative treatment for many diseases of the blood system. The number of allo-HSCT types is constantly growing globally. Currently, an allogeneic hematopoietic stem cell donor can be selected for almost every recipient having indication for this type of therapy. Such a transplantation can be performed from an *HLA*-identical sibling, an *HLA*-match unrelated donor, a partially *HLA*-match unrelated donor, a relative haploidentical donor or cord blood. *HLA* match between the recipient and the donor present itself as an important factor affecting the results of allo-HSCT. The choice of a donor should involve a correct assessment the *HLA* match degree between the recipient and the donor, as well as consideration of additional factors that may affect the results of allo-HSCT.

Keywords: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, donors, recipients, *HLA* typing, match assessment, review

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: 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. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2019; 64(2):175–187 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-175-187>

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток крови (алло-ТГСК) является эффективным, а в ряде случаев и безальтернативным методом лечения многих заболеваний системы крови [1, 2]. Количество выполняемых алло-ТГСК в мире постоянно растет. По данным Европейского общества трансплантации крови и костного мозга, в странах Европы, включая Россию, в 2016 г. было выполнено более 16 500 алло-ТГСК [3], а в 2017 г. — более 17 000 [4]. Важным аспектом оказания медицинской помощи является внедрение клинических руководств и стандартов. В последнее время произошел значительный

скачок в развитии технологий *HLA*-типирования, а с другой стороны, стали доступны данные многоцентровых исследований, оценивающие результаты ежегодно возрастающего числа алло-ТГСК. Появилась потребность в унификации руководств и стандартов по требованиям к *HLA*-типированию и оценке степени *HLA*-совместимости больного и донора при разных видах алло-ТГСК: родственной *HLA*-идентичной, родственной *HLA*-гаплоидентичной, неродственной *HLA*-совместимой и частично-совместимой, а также трансплантации пуповинной крови [5]. *HLA*-совместимость — важный, но не единственный фактор,

определяющий эффективность алло-ТГСК. Главный фактор — статус заболевания, потребовавшего выполнения алло-ТГСК. Выбор донора не должен затягиваться из-за призрачной надежды найти со временем более совместимого донора, поскольку выживаемость больных, которым алло-ТГСК выполнялась на ранних стадиях заболевания, значительно выше выживаемости больных, алло-ТГСК у которых выполнялась в развернутых стадиях [6].

Цель обзора — привести современные требования по *HLA*-типированию больного и донора при алло-ТГСК и рекомендации по оценке необходимой степени совместимости больного и того или иного донора, а также данные о некоторых дополнительных иммуногенетических факторах, которые могут способствовать улучшению результатов алло-ТГСК.

Основные источники — рекомендации, разработанные Сетью по клиническим испытаниям при трансплантации крови и костного мозга (Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network — BMT CTN) и поддержанные Американским обществом тканевой совместимости и иммуногенетики (American Society of Histocompatibility and Immunogenetics ASHI) [5], и последние версии стандартов Европейской федерации иммуногенетики (European Federation for Immunogenetics — EFI) [7].

Главный комплекс генов гистосовместимости человека (*HLA*) и термины, используемые при *HLA*-типировании и оценке совместимости больного и донора гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК)

Последняя версия EFI стандартов [7] определяет *HLA*-систему как наследуемую генетическую систему для распознавания и отторжения чужеродных тканей (и органов). *HLA* располагается на коротком плече хромосомы 6. На основе структурных и функциональных различий эти гены подразделяют на три класса [8]. Классические гены класса I (*HLA-A*, *HLA-B* и *HLA-C*) кодируют вариабельные тяжелые цепи *HLA*-молекул, представленные на плазматической мембране всех ядерных клеток. В дополнение к классическим генам к первому классу относят «неклассические» гены *HLA-E*, *HLA-F*, *HLA-G*, *HLA-H* и др. [9].

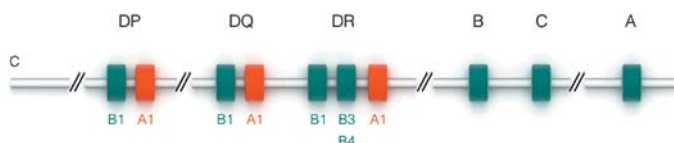


Рисунок 1. Главный комплекс генов гистосовместимости человека [8]

Figure 1. The main complex of human histomatch genes [8]

Регион класса II состоит из нескольких локусов, таких как *HLA-DR*, *HLA-DQ*, *HLA-DP*. Каждая молекула класса II — гетеродимер, сформированный из α - и β -субъединиц, гены которых кодируются в этом регионе *HLA*. *HLA-DRB3/4/5*-гены — дополнительные гены локуса *HLA-DR*, входящие в состав некоторых *HLA*-гаплотипов. Здесь же располагаются гены *LMP* и *TAP*, кодирующие белки, которые отвечают за процессирование эндогенных антигенов.

По сравнению с *HLA-DR*-антигенами молекулы *HLA-DQ* и *HLA-DP* характеризуются низкой экспрессией, и при алло-ТГСК типирование их генов не всегда является обязательным, однако ген *HLA-DQB1* в рутинной практике обычно типировается (в отличие от *HLA-DPB1*), так как гены локусов *HLA-DR* и *HLA-DQ* находятся в тесном неравновесном сцеплении. Между локусом *HLA-DP* и остальным комплексом генов имеется «горячая точка» рекомбинации (кроссинговера), поэтому он находится в слабом неравновесном сцеплении с остальными *HLA*-генами, что ведет к тому, что ~80 % *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1*, *-DQB1*-совместимых пар донор-реципиент при неродственной алло-ТГСК, не совпадают по *HLA-DPB1*, как и 3–5 % пар при родственной алло-ТГСК, идентичной по другим генам *HLA* [10].

Гены класса III располагаются между областями генов *HLA* классов I и II и кодируют молекулы врожденного иммунитета (компоненты комплемента C2, C4, фактор некроза опухоли, белки теплового шока и др.) [9].

Многие *HLA*-гены характеризуются значительным полиморфизмом, а *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1*-гены — экстремальным. На февраль 2019 г. число *HLA*-аллелей класса I превысило 15 500, а класса II — 5900 [11].

Требования, предъявляемые к *HLA*-типированию при разных видах алло-ТГСК, различны, однако *HLA*-типирование для всех алло-ТГСК должно выполняться методами ДНК-типирования. Наиболее распространенными методами ДНК-типирования являются: SSP (Sequence Specific Primers — полимеразная цепная реакция с сиквенс-специфическими праймерами), SSO (Sequence Specific Oligonucleotides — полимеразная цепная реакция с последующей гибридизацией с сиквенс-специфическими олигонуклеотидными зондами), SBT (Sequence Based Typing — полимеразная цепная реакция с последующим секвенированием по Сэнгеру) и NGS (Next Generation Sequencing — секвенирование следующего поколения). Знак астериска после обозначения гена, например, *HLA-A**, указывает, что анализ выполнялся методами ДНК-типирования.

Под *HLA*-типированием с высоким разрешением понимается идентификация аллелей, кодирующих одинаковую аминокислотную последовательность внутри антигенсвязывающего сайта. Высокое разрешение

должно идентифицировать аллели на уровне первого и второго полей (четыре цифры) — $A^*01:01$, согласно номенклатуре ВОЗ, и разрешать все неоднозначности внутри 2 и 3-го экзонов для *HLA* класса I и 2-го экзона для *HLA* класса II, приводящие к изменению аминокислотной последовательности, а также исключать все нулевые аллели (*N*), независимо от места локации полиморфизма [5, 7, 8]. Нулевые аллели — это аллели (*HLA*)-генов, не экспрессирующиеся на поверхности клетки.

HLA-типирование с низким разрешением — ДНК-типирование, результат которого получен на уровне первого поля (две цифры), например A^*01 (совпадает с типированием на уровне *HLA*-антигена).

HLA-типирование со средним разрешением — типирование с результатом, промежуточным между типированием с низким и типированием с высоким разрешением.

HLA-типирование с разрешением на уровне аллеля — типирование на уровне уникальной нуклеотидной последовательности *HLA*-гена с результатом на уровне 4-го поля (восемь цифр): $A^*02:01:01:01$ [8].

HLA-гаплотип — совокупность генов *HLA*, лежащих на одной хромосоме и наследующихся как одна единица. Два *HLA*-гаплотипа составляют *HLA*-генотип.

Неравновесное сцепление генов — неслучайное распределение частот аллелей разных генов, которое может быть обусловлено не только тесным генетическим сцеплением генов, но и наличием адаптивного преимущества конкретной комбинации аллелей, частота которой возрастает в сравнении с частотой, ожидаемой при случайном распределении.

Рекомбинация (кроссинговер) — обмен участками между парными (гомологичными) хромосомами в процессе мейоза, который приводит к новым комбинациям аллелей разных (*HLA*)-генов.

Рекомендации по *HLA*-типированию и оценке *HLA*-совместимости больного и донора при алло-ТГСК от *HLA*-идентичного сиблинга

HLA-идентичный (полностью совместимый) сиблинг (сибс — от англ. Sisters/Brothers) рассматривается как донор первого выбора, так как является наиболее оптимальным донором, который наследует одинаковые с больным *HLA*-гаплотипы от общих родителей: *HLA*-генотипически совместимый сиблинг — «золотой стандарт» при алло-ТГСК [5, 8]. Минимальные требования для установления *HLA*-идентичности при данном виде алло-ТГСК предусматривают, что больного, его сиблингов, родителей (если они доступны) следует *HLA*-типировать с разрешением не ниже среднего по генам *HLA-A* и *-B*, а ген *HLA-DRB1* — с высоким разрешением методами ДНК-типирования (табл. 1). Больной и донор-сиблинг должны совпадать по 6 ге-

нам из 6 (совпадение 6/6) [5]. Следует отметить, что это минимальные требования, и они могут быть изменены в сторону повышения.

По возможности должны быть установлены *HLA*-гаплотипы в семье больного для подтверждения *HLA*-идентичности реципиента (больного) и донора-сиблинга. Для этого *HLA*-типироваться все прямые родственники, включая родителей и детей реципиента и донора. Если требуется, то должна быть возможность дополнительно типировать *HLA-C* и *HLA-DQB1*-гены. При отсутствии возможности установить *HLA*-гаплотипы в семье рекомендуется типировать больного и донора-сиблинга по высокому разрешению по *HLA-A*, *-B*, *-C* и *-DRB1*-генам [5, 7, 8]. Перед трансплантацией как больной, так и донор должны быть повторно типированы, как минимум, по *HLA-A*, *-B*, *-DRB1*-генам из новых образцов [7].

В редких случаях, когда больной и донор-сиблинг отличаются по одному из генов *HLA* в результате рекомбинации (кроссинговера), их необходимо типировать, как минимум, по *HLA-A*, *-B*, *-C*-генам с разрешением не ниже среднего и гену *HLA-DRB1* с высоким разрешением. При данной алло-ТГСК больной и донор-сиблинг должны совпадать по 7 генам из 8 — 7/8 (или 9 из 10 — 9/10 при учете *HLA-DQB1*-гена) [5].

К сожалению, *HLA*-идентичный сиблинг имеется далеко не у всех больных с показаниями к алло-ТГСК (даже если у больного имеется несколько сиблингов), для остальных необходим поиск альтернативного донора [8, 12]. Донором следующего выбора обычно является *HLA*-совместимый неродственный донор.

Рекомендации по *HLA*-типированию и оценке *HLA*-совместимости больного и донора при алло-ТГСК от неродственного донора

Многочисленные исследования [6, 13–16] показали, что при алло-ТГСК от *HLA*-совместимого неродственного донора выживаемость выше, а летальность, связанная с трансплантацией, ниже, чем при алло-ТГСК от донора с несоответствиями по *HLA*.

Алло-ТГСК от *HLA*-совместимого неродственного донора предусматривает, что больной и донор совпадают минимально по *HLA-A*, *-B*, *-C* и *-DRB1*-генам на уровне высокого разрешения — совпадение по восьми генам из восьми — 8/8 [5]. В большинстве европейских стран также учитывается совпадение на уровне высокого разрешения по гену *HLA-DQB1* — совпадение 10/10 [7, 8]. Совпадение 12/12 бывает в тех случаях, когда больной и донор совпадают также и по гену *HLA-DPB1*.

Поиск донора следует начинать с отечественных баз данных и регистров, так как выживаемость больных, которым алло-ТГСК выполнена от полностью совместимого отечественного донора выше, чем выживаемость больных с полностью совместимым донором

Таблица 1. Минимальные требования к HLA-типированию при оценке совместимости больного и донора при алло-ТГСК**Table 1.** Minimum requirements for HLA typing in assessing recipient and donor match in allo-HSCT

Алло-ТГСК Allo-HSCT	Рекомендуемый уровень HLA-типирования и совместимости донора и реципиента Donor and recipient HLA-typing and matching recommendation
HLA-идентичная родственная <i>HLA-identical related</i>	Совпадение 6/6 при типировании генов HLA-A и -B со средним или высоким разрешением и гена HLA-DRB1 с высоким разрешением. Установление HLA-гаплотипов (при возможности) <i>6/6 match when typing the HLA-A and -B genes (medium or high resolution) and the HLA-DRB1 gene (high resolution).</i> <i>Determination of HLA haplotypes (if possible)</i>
Гаплоидентичная родственная <i>Haploidentical related</i>	Совпадение $\geq 5/10$ (если дополнительно типировается ген HLA-DQB1) или $\geq 4/8$ (если ген HLA-DQB1 не типировается) при типировании генов HLA-A, -B, -C со средним или высоким разрешением и гена HLA-DRB1 с высоким разрешением. Установление HLA-гаплотипов (при возможности) <i>$\geq 5/10$ match (if the HLA-DQB1 gene is additionally typed) or $\geq 4/8$ (if the HLA-DQB1 gene is not typed) when typing the HLA-A, -B, -C genes (medium or high resolution) and gene HLA-DRB1 (high resolution)</i>
Совместимая неродственная <i>Matched unrelated</i>	Совпадение 10/10 (если дополнительно типировается ген HLA-DQB1) или 8/8 (если ген HLA-DQB1 не типировается) при типировании HLA-A, -B, -C и -DRB1, -DQB1 с высоким разрешением <i>10/10 match (if the HLA-DQB1 gene is additionally typed) or 8/8 (if the HLA-DQB1 gene is not typed) when typing the HLA-A, -B, -C -DRB1, -DQB1 genes (high resolution)</i>
9/10 (7/8) неродственная <i>9/10 (7/8) unrelated</i>	Совпадение 9/10 (если дополнительно типировается ген HLA-DQB1) или 7/8 (если ген HLA-DQB1 не типировается) при типировании генов HLA-A, -B, -C и -DRB1, -DQB1 с высоким разрешением. Не рекомендуется степень совпадения 7/10 (6/8) <i>9/10 match (if HLA-DQB1 gene is additionally typed) or 7/8 (HLA-DQB1 gene is not typed) when typing the HLA-A, -B, -C and -DRB1, -DQB1 (high resolution). 7/10 (6/8) match is not recommended</i>
Пуповинная кровь <i>Umbilical cord blood</i>	Совпадение $\geq 4/6$ при типировании генов HLA-A и -B со средним или высоким разрешением и гена HLA-DRB1 (высокое разрешение) <i>$\geq 4/6$ match when typing the HLA-A and -B genes (medium or high resolution) and the HLA-DRB1 gene (high resolution)</i>

из зарубежных регистров [17]. Вероятная причина этого явления то, что отечественные доноры чаще совпадают с больным не только по аллелям *HLA*-генов, но и по комплексу всех генов, картируемых в области *HLA*. Присутствие у больного распространенных *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1*, *-DQB1*-гаплотипов уменьшает риск развития острой тяжелой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) без повышения риска развития рецидива [18]. В России имеется общенациональная база потенциальных *HLA*-типированных неродственных доноров ГСК — Bone Marrow Donor Search (bmbs), в которую на февраль 2018 г. были включены данные 90 000 доноров [19], что, конечно, недостаточно для страны с такой численностью населения, как РФ.

Примерный алгоритм поиска *HLA*-совместимого неродственного донора приведен на рисунке 2 (алгоритм Итальянского регистра доноров костного мозга) [20].

Больной с показаниями к алло-ТГСК, у которого нет *HLA*-идентичного сиблинга, должен быть *HLA*-типирован по высокому разрешению по *HLA-A*, *-B*, *-C* и *-DRB1*, *-DQB1*-генам. Если для больного имеется бо-

лее двух неродственных *HLA*-совместимых доноров с совпадением 10/10, выбирается донор, у которого отсутствует недопустимое несовпадение с больным по гену *HLA-DPB1*.

HLA-DP-молекулы делятся на три группы ТСЕ (T-Cell Epitope) в зависимости от того, распознаются ли они всеми Т-клонами — группа ТСЕ1 (с сильной иммуногенностью); некоторыми — группа ТСЕ2 (со средней иммуногенностью) или вообще не распознаются — группа ТСЕ3 (со слабой иммуногенностью). В зависимости от принадлежности аллелей *DPB1* к одной и той же или разным группам классифицируются допустимые и недопустимые несовпадения у пар донор-реципиент [21–23]. Оценить степень совпадения больного и донора по принадлежности к ТСЕ-группам можно с помощью алгоритмов, представленных на сайте Европейского института биоинформатики [24].

Если у больного имеется несколько доноров с совместимостью 12/12 (т.е. по *HLA-A*, *-B*, *-C* и *-DRB1-DQB1-DPB1*-генам), дальнейший выбор донора предусматривает сов-

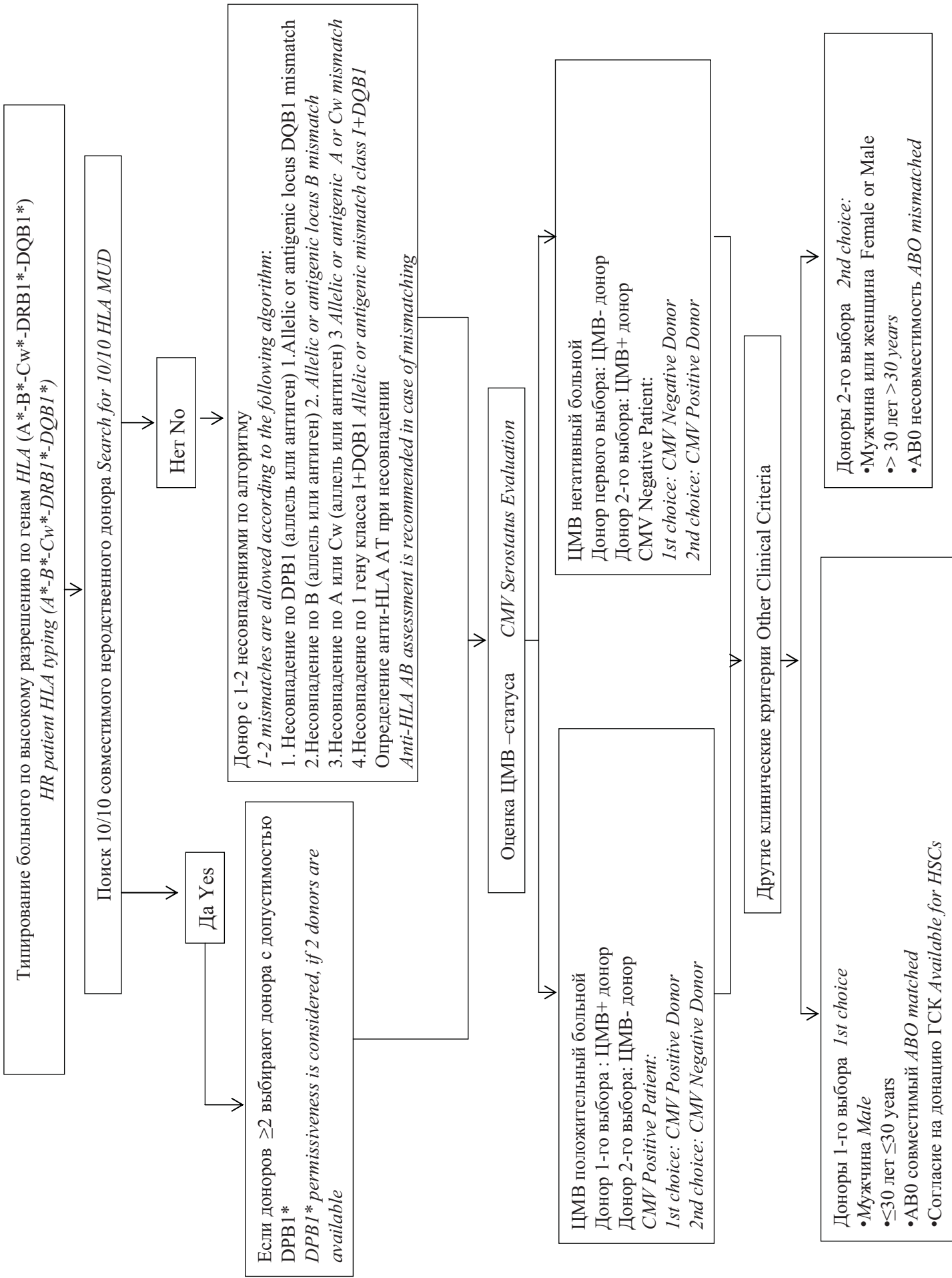


Рисунок 2. Алгоритм селекции неродственного донора Итальянского регистра доноров [20]

Figure 2. Unrelated donor selection algorithm of the Italian Donor Register [20]

местимость больного и донора по цитомегаловирусному (ЦМВ) статусу (для больного ЦМВ- предпочтительнее донор ЦМВ-; для больного ЦМВ+ предпочтительнее донор ЦМВ+) и учет других клинических критериев: доноры-мужчины предпочтительнее доноров-женщин, молодой возраст донора (предпочтительнее до 30 лет), совместимость донора и реципиента по системе АВО, согласие донора на донацию костного мозга и/или стволовых клеток периферической крови [15, 20].

Если у больного нет полностью *HLA*-совместимого донора, выбирается донор, имеющий одно несовпадение с больным. Несовместимость по *HLA*-генам повышает вероятность развития реакции «трансплантат против хозяина». Возникает вопрос: несовместимость по какому из *HLA*-генов является наиболее приемлемой? К сожалению, ответ остается до сих пор достаточно дискуссионным. Наиболее приемлема несовместимость по гену *HLA-DQB1* (из-за низкой экспрессии молекул *HLA-DQ*), однако несовместимость по *HLA-DQB1* часто сопровождается несовместимостью по *HLA-DRB1* вследствие сильного неравновесного сцепления между генами локусов *HLA-DR* и *HLA-DQ*. Несовместимость по *HLA-DRB1* чревата несовместимостью по генам *HLA-DRB3/4/5*. Хотя для этих генов характерна низкая экспрессия, добавочная несовместимость по *HLA-DRB3*, *DRB4* и *DRB5* повышала риск РТПХ при алло-ТГСК с несовместимостью по генам *HLA-A*, *B* и/или *DRB1*, но не при алло-ТГСК с 10/10 совместимостью [25, 26].

Так как ген *HLA-A* расположен на дистальном краю *HLA*-комплекса, он более подвержен кроссинговеру, чем другие гены *HLA*-комплекса (за исключением локуса *HLA-DP*), и найти донора с несовместимостью по этому гену легче. Однако несовместимость по *HLA-A* статистически достоверно снижала посттрансплантационную выживаемость [13]. Более приемлемой кажется несовместимость по гену *HLA-B*, однако несовместимость по *HLA-B* обычно сопровождается и несовместимостью по *HLA-C* из-за неравновесного сцепления этих генов [13]. Улучшить результаты алло-ТГСК с *HLA-B* несовместимостью можно, подбирая донора с несовпадением внутри одного *HLA-B*-супертипа (которые устанавливаются на основании структурного и функционального сходства эпитопов пептидсвязывающего сайта *HLA*-молекул) [27].

Данные о несовместимости по гену *HLA-DRB1* противоречивы: в одних работах несовместимость по *HLA-DRB1* сопровождалась достоверным снижением выживаемости [13], в других — *HLA-DRB1*-несовместимость не приводила к достоверному повышению частоты развития острой формы РТПХ и снижению посттрансплантационной выживаемости [28].

Несовпадение по гену *HLA-C* приводило к повышению посттрансплантационной смертности [28], с другой стороны, несовпадение больного и донора по аллелям *HLA-C*03:03* vs *HLA-C*03:04* является допустимым [29], но не для больных

после кондиционирования в пониженном режиме интенсивности [30]. У детей с несовместимостью с донором по *HLA-C* после алло-ТГСК не наблюдалось снижение общей выживаемости, в отличие от несовместимости по генам *HLA-A* и *-B* [31].

Различий в выживаемости при несовпадении генов *HLA* на уровне аллеля или антигена не выявлялось [8, 32]. Несовместимость по двум генам *HLA* сопровождалась более значительным понижением выживаемости после алло-ТГСК, чем несовпадение по одному гену, еще хуже были результаты трансплантаций, которые выполнялись от доноров с множественными несовпадениями [13].

С целью верификации перед алло-ТГСК *HLA*-типирование больного и донора должно быть повторено из другого образца, как минимум, по *HLA-A*, *-B*, *-DRB1*-генам. При этом для неродственного донора в качестве одного из двух требуемых *HLA*-типирований приемлемо использовать данные регистра [7].

При алло-ТГСК от частично-совместимого донора рекомендуется определять наличие у больного анти-*HLA* антител к несовпадающему с донором антигену *HLA*, т.е. определять наличие донор-специфических анти-*HLA* антител у больного (donor specific antibodies — DSA). Присутствие у больного донор-специфических антител к *HLA*-антигенам донора, образовавшихся в результате гемотрансфузий, беременностей или предыдущих трансплантаций, приводит к неприживлению или отторжению трансплантата, а также понижает выживаемость и повышает летальность после алло-ТГСК [33].

Молекулы *HLA* класса I также являются лигандами киллерных иммуноглобулинподобных рецепторов (*KIR*) натуральных киллерных клеток (*NK*-клеток). *KIR*-гаплотипы делятся на две группы — *A* и *B*. *A*-гаплотипы имеют фиксированное число генов и включают в основном гены ингибиторных рецепторов и только один ген активационного рецептора — *KIR2DS4*. *B*-гаплотипы весьма разнообразны, они характеризуются аккумулярованием генов, кодирующих активационные *KIR*. У больных острыми миелоидными лейкозами при алло-ТГСК от неродственного донора (совместимого или частично-совместимого) отмечалось улучшение безрецидивной выживаемости при трансплантации от донора с *KIR-B*-гаплотипами [34, 35], особенно благоприятной являлась гомозиготность донора по центромерным *KIR-B*-мотивам [36].

Если у больного нет *HLA*-идентичного сиблинга и отсутствует неродственный донор — *HLA*-совместимый (10/10) или частично совместимый (9/10) или нет временного запаса на проведение поиска неродственного донора (часто поиск неродственного донора продолжается несколько месяцев), встает вопрос о проведении алло-ТГСК от *HLA*-гаплоидентичного донора.

Отец Father	
a) <u>A*01 B*08 C*07 DRB1*03:01</u>	/ b) <u>A*02 B*07:01 C*07 DRB1*15:01(NIPA)</u>
Мать Mother	
c) <u>A*03 B*35 C*04 DRB1*01:01 (NIMA)</u>	/ d) <u>A*11 B*57 C*06 DRB1*07:01</u>
Больной Patient	
a) <u>A*01 B*08 C*07 DRB1*03:01</u>	/ d) <u>A*11 B*57 C*06 DRB1*07:01</u>
Сиблинг 1 Sibling 1	
a) <u>A*01 B*08 C*07 DRB1*03:01</u>	/ c) <u>A*03 B*35 C*04 DRB1*01:01 (NIMA)</u>
Сиблинг 2 Sibling 2	
b) <u>A*02 B*07:01 C*07 DRB1*15:01(NIPA)</u>	/ d) <u>A*11 B*57 C*06 DRB1*07:01</u>

Рисунок 3. Наследование NIMA и NIPA антигенов в семье
Figure 3. Inheritance of NIMA and NIPA antigens in the family

Рекомендации по *HLA*-типированию и оценке *HLA*-совместимости больного и донора при алло-ТГСК от *HLA*-гаплоидентичного донора

В последние годы отмечается рост *HLA*-гаплоидентичных алло-ТГСК [3–6]. Внедрение новых режимов кондиционирования и методов профилактики РТПХ, совершенствование технологии процессинга трансплантата существенно снизили риск развития тяжелых, подчас смертельных осложнений при трансплантации гаплоидентичных ТГСК и расширили возможность использования алло-ТГСК от *HLA*-гаплоидентичного донора [32, 37]. Родители, дети, сиблинги и другие родственники, которые наследуют один общий с больным *HLA*-гаплотип, могут являться родственными *HLA*-гаплоидентичными донорами, т.е. *HLA*-гаплоидентичный донор является доступным для большинства больных. *HLA*-гаплоидентичный донор первой степени родства может быть найден более чем для 95 % больных, среднее число гаплоидентичных доноров у одного больного — два или больше [38].

Для установления *HLA*-гаплоидентичности (т.е. совпадения по одному *HLA*-гаплотипу) требуется, чтобы больной и донор были протипированы по генам *HLA-A*, *-B*, *-C* с разрешением не ниже среднего и по гену *HLA-DRB1* с высоким разрешением (как минимум). При этом степень совместимости должна быть $\geq 5/10$ (если дополнительно типировается ген *HLA-DQB1*) или $\geq 4/8$ (если ген *HLA-DQB1* не типировается). Между донором и больным допускается только одно несовпадение по одному гену *HLA* (два несовпадения по одному *HLA*-гену не допускаются, они свидетельствуют, что донор и больной расходятся по обоим *HLA*-гаплотипам). Когда возможно, следует устанавливать *HLA*-гаплотипы в семье больного и донора для подтверждения их *HLA*-гаплоидентичности [5, 7].

Поскольку у *HLA*-сенситизированных больных существует значительный риск неприживления/отторжения трансплантата, все больные с *HLA*-гаплоидентичным донором должны исследоваться на присутствие DSA [33, 39]. По возможности следует избегать трансплантации от *HLA*-гаплоидентичного донора,

несущего мишени (*HLA*-антигены) для *HLA*-антител, выявленных у больного.

Дополнительным фактором, способным оказать влияние на результаты алло-ТГСК от гаплоидентичного донора, являются так называемые ненаследуемые больным родительские *HLA*-антигены: материнские (NIMA — non-inherited maternal antigens) и отцовские (NIPA — non-inherited paternal antigens). Они устанавливаются при *HLA*-типировании родителей больного и его сиблингов. Выявлено, что при гапло-ТГСК от NIMA-сиблингов больные имели более низкую частоту РТПХ по сравнению с пациентами с NIPA-донорами (вероятно, из-за приобретения определенной толерантности к *HLA*-антигенам матери во время внутриутробного развития вследствие фетально-материнского микрохимеризма) [40]. Однако выживаемость больных при проведении гапло-ТГСК без Т-деплеции от донора-отца была выше, чем от донора-матери [41].

На рисунке 3 у больного имеются два *HLA*-гаплоидентичных сиблинга: сиблинг № 1 наследует общий с больным *HLA*-гаплотип от отца и расходится с больным по *HLA*-гаплотипу, унаследованному от матери, т.е. сиблинг № 1 несет ненаследуемые больным материнские *HLA*-антигены (NIMA).

Сиблинг № 2 наследует общий с больным *HLA*-гаплотип от матери и расходится с больным по *HLA*-гаплотипу, унаследованному от отца, т.е. несет ненаследуемые больным отцовские *HLA*-антигены (NIPA). Следовательно, в соответствии с приведенными выше данными, сиблинг № 1 более предпочтительный донор, чем сиблинг № 2.

У больных острыми миелоидными лейкозами при гапло-ТГСК с Т-деплецией трансплантата отмечалось снижение частоты рецидива, если у больного отсутствовал *HLA*-лиганд для KIR-рецептора донора (т.е. гапло-ТГСК была проведена от НК-аллореактивного донора) [42]. К сожалению, данный эффект не отмечался при гапло-ТГСК, выполненных без Т-деплеции трансплантата [43].

Предпочтительные характеристики при выборе *HLA*-гаплоидентичного донора в порядке приоритета приведены в таблице 2 [39].

Рекомендации по *HLA*-типированию и оценке *HLA*-совместимости больного и донора при трансплантации пуповинной крови

Хотя в последние годы отмечается уменьшение количества трансплантаций пуповинной крови [3, 4, 6], ее использование расширяет доступ к алло-ТГСК для больных, у которых отсутствует родственный *HLA*-идентичный или гаплоидентичный донор, а также неродственный *HLA*-совместимый или частично-совместимый донор. При трансплантации пуповинной крови требуется, чтобы больной (реципиент) и образец пуповинной крови были *HLA*-типированы,

Таблица 2. Приоритетность донорских характеристик при селекции донора для гаплоидентичной трансплантации
Table 2. Priority of donor characteristics in donor selection for haploidentical transplantation

Гапло-ТГСК с Т-деплецией <i>T-cell depleted haploidentical transplantation</i>	Гапло-ТГСК без Т-деплеции <i>T-cell repleted haploidentical transplantation</i>
Донор без соответствующего HLA-антигена-мишени для больного с DSA <i>Donor without appropriate HLA target antigen for a recipient with DSA</i>	Донор без соответствующего HLA-антигена-мишени для больного с DSA <i>Donor without appropriate HLA target antigen for a recipient with DSA</i>
Донор с NK-реактивностью <i>NK cell alloreactive donor</i>	Более молодой донор <i>Younger donor</i>
Более молодой донор <i>Younger donor</i>	Донор-мужчина для больного-мужчины <i>Male donor for male recipient</i>
Донор-мужчина для больного-мужчины <i>Male donor for male recipient</i>	Сиблинг или отпрыск по сравнению с родителем <i>Sibling or offspring compared to the parent</i>
Родственник первой степени родства по сравнению с ½ совместимыми донорами второй степени родства <i>First degree relative compared to ½ match second degree relative</i>	Отец больного предпочтительнее матери <i>The recipient's father is preferable to the mother</i>
Мать больного предпочтительнее отца <i>The mother of the recipient is preferable to the father</i>	АВО-совместимый донор предпочтительнее донора с минорным несовпадением по АВО. Донор с минорным несовпадением по АВО предпочтительнее донора с большим несовпадением по АВО <i>ABO matched donor is preferable to a donor with a minor mismatch in ABO. A donor with a minor mismatch in ABO is preferable to a donor with a large mismatch in ABO</i>
АВО-совместимый донор <i>ABO matched donor</i>	Родственник первой степени родства по сравнению с ½ совместимыми донорами второй степени родства <i>First degree relative compared to ½ compatible second degree relative</i>
ЦМВ-позитивный донор для ЦМВ-позитивного больного <i>CMV-positive donor for CMV-positive recipient</i>	Донор с совпадением по KIR-лиганду <i>KIR ligand matched donor</i>
	Донор с NIMA-несовпадением по сравнению с NIPA-несовпадением <i>Donor with NIMA mismatch compared to NIPA mismatch</i>

как минимум, по генам *HLA-A* и *-B* с разрешением не ниже среднего и по гену *HLA-DRB1* с высоким разрешением. Требуемое совпадение $>4/6$ [5]. Однако совпадение по высокому разрешению по *HLA-A*, *-B*, *-C* и *-DRB1*-генам способствует более успешному приживлению трансплантата и понижению посттрансплантационной летальности [44].

Показано, что несовпадение трансплантата пуповинной крови с больным по NIMA HLA-антигенам сопровождалось повышением выживаемости [45, 46]. Как и при других видах алло-ТГСК с *HLA*-несовпадением между донором и реципиентом, при трансплантации пуповинной крови рекомендуется определять наличие у больного DSA и избегать трансплантаций от доноров с HLA-мишенями для DSA у больного [47].

Таким образом, в настоящее время донор аллогенных гемопоэтических стволовых клеток может быть подобран для большинства больных с показаниями к алло-ТГСК. *HLA*-совместимость больного и донора является важным фактором, влияющим на результаты алло-ТГСК. При выборе донора необходима правильная оценка

степени *HLA*-совместимости между больным и тем или иным донором, а также учет дополнительных факторов, которые могут влиять на результаты алло-ТГСК. Донором первого выбора является *HLA*-идентичный сиблинг, а в его отсутствие — *HLA*-совместимый (10/10) неродственный донор. Выбор между частично-совместимым неродственным донором, гаплоидентичным родственным донором или пуповинной кровью зависит от трансплантационного центра. На селекцию донора влияют как срочность проведения алло-ТГСК, так и опыт проведения алло-ТГСК, имеющийся у трансплантационного центра.

Внедрение новых технологий типирования — NGS (секвенирования следующего поколения) способно повысить разрешение *HLA*-типирования практически до уровня аллеля для всех принимаемых во внимание при селекции донора *HLA*-генов, что особенно важно при частично-совместимых алло-ТГСК, а расширение регистров за счет доноров, *HLA*-типированных методом NGS, должно сократить время поиска донора и принятия решений.

Литература

1. Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика; 2018. Т. 1. 1008 с.
2. Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика. 2018. Т. 2. 1264 с.

References

1. Diagnostic algorithms and protocols for the treatment of blood system diseases. Savchenko V.G., ed. Moscow: Praktika; 2018. V. 1. 1008 p. (In Russian).
2. Diagnostic algorithms and protocols for the treatment of blood system diseases. Savchenko V.G., ed. Moscow: Praktika; 2018. V. 2. 1264 p. (In Russian).

3. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P., Basak G.W., Bonini C., Duarte R., 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
4. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P., et al. The EBMT activity survey report 2017: a focus on allogeneic HCT for nonmalignant indications and on the use of non-HCT cell therapies. *Bone Marrow Transplant.* Bone Marrow Transplant. 2019. DOI: 10.1038/s41409-019-0465-9 [Epub ahead of print]
5. Howard C.A., Fernandez-Vina M.A., Appelbaum F.R., et al. Recommendations for donor human leukocyte antigen assessment and matching for allogeneic stem cell transplantation: consensus opinion of the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN). *Biol Blood Transplant.* 2015; 21(1): 4–7. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.09.017
6. Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR Summary Slides. 2017. <http://www.cibmtr.org>
7. EFI Standards for histocompatibility and immunogenetics testing. 2018. <https://www.efi-web.org/news/version-7-of-the-standards-for-histocompatibility-immunogenetics-testing.html>
8. Tiercy J.M. How To Select The Best Available Related Or Unrelated Donor Of Hematopoietic Stem Cells? *Haematologica.* 2016; 101: 680–7. DOI: 10.3324/haematol.2015.141119
9. Зарецкая Ю.М., Хамаганова Е.Г., Губарев М.И. Иммунология и иммуногенетика человека.. М.: Триада-фарм; 2002. 138 с.
10. Fleischhauer K., Fernandez-Viña M.A., Wang T., et al. Risk associations between HLA-DPB1 T-cell epitope matching and outcome of unrelated hematopoietic cell transplantation are independent of HLA-DPA1. *Bone Marrow Transplantation.* 2014; 49: 1176–83. DOI: 10.1038/bmt.2014.122
11. European Bioinformatics Institute. IPD-IMGT/HLA Database. <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/statistics>
12. Хамаганова Е.Г., Кузьмина Е.П., Паровичникова Е.Н. и др. Вероятность нахождения HLA-идентичного родственного донора для больных с заболеваниями системы крови из семей с разным числом детей. *Гематология и трансфузиология.* 2017; 62(1): 29–32. DOI: 10.18821/0234-5730-2017-62-1-29-32
13. Lee S.J., Klein J., Haagenson M., et al. High resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood.* 2007; 110: 4576–83. DOI: 10.1182/blood-2007-06-097386
14. Woolfrey A., Klein J.P., Haagenson M., et al. HLA-C antigen mismatch is associated with worse outcome in unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011; 17: 885–92. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.09.012
15. Spellman S.R., Eapen M., Logan B.R., et al. A perspective on the selection of unrelated donors and cord blood units for transplantation. *Blood.* 2012; 120: 259–65. DOI: 10.1182/blood-2012-03-379032
16. Kollman C., Spellman S.R., Zhang M.J., et al. The effect of donor characteristics on survival after unrelated donor transplantation for hematologic malignancy. *Blood.* 2016; 127: 260–7. DOI: 10.1182/blood-2015-08-663823
17. Fürst D., Müller 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
18. Jöris M.M., Lankester A.C., von dem Borne P.A., et al. The impact of frequent HLA haplotypes in high linkage disequilibrium on donor search and clinical outcome after unrelated haematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplantation.* 2013; 48: 483–90. DOI: 10.1038/bmt.2012.189
19. BMDS. <http://bmds.1spbgmu.ru>
20. Picardi A., Arcese W., Pollichieni S., et al. The Rome Transplant Network model compared to the Italian Bone Marrow Donor Registry activity for unrelated
3. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P., Basak G.W., Bonini C., Duarte R., 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
4. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P., et al. The EBMT activity survey report 2017: a focus on allogeneic HCT for nonmalignant indications and on the use of non-HCT cell therapies. *Bone Marrow Transplant.* Bone Marrow Transplant. 2019. DOI: 10.1038/s41409-019-0465-9 [Epub ahead of print]
5. Howard C.A., Fernandez-Vina M.A., Appelbaum F.R., et al. Recommendations for donor human leukocyte antigen assessment and matching for allogeneic stem cell transplantation: consensus opinion of the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN). *Biol Blood Transplant.* 2015; 21(1): 4–7. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.09.017
6. Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR Summary Slides. 2017. <http://www.cibmtr.org>
7. EFI Standards for histocompatibility and immunogenetics testing. 2018. <https://www.efi-web.org/news/version-7-of-the-standards-for-histocompatibility-immunogenetics-testing.html>
8. Tiercy J.M. How To Select The Best Available Related Or Unrelated Donor Of Hematopoietic Stem Cells? *Haematologica.* 2016; 101: 680–7. DOI: 10.3324/haematol.2015.141119
9. Zaretskaya Y.M., Khamaganova E.G., Gubarev M.I. Human immunogenetics and immunology. Moscow: Triada-farm; 2002. 138 p (*In Russian*).
10. Fleischhauer K., Fernandez-Viña M.A., Wang T., et al. Risk associations between HLA-DPB1 T-cell epitope matching and outcome of unrelated hematopoietic cell transplantation are independent of HLA-DPA1. *Bone Marrow Transplantation.* 2014; 49: 1176–83. DOI: 10.1038/bmt.2014.122
11. European Bioinformatics Institute. IPD-IMGT/HLA Database. <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/statistics>
12. Khamaganova E.G., Kuzminova E.P., Parovichnikova E.N., et al. Probability of the finding the hla-identical related donor for patients with hematological disorders from families with different numbers of children. *Genetologiya i Transfusiologiya.* 2017; 62(1): 29–32. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-29-32> (*In Russian*).
13. Lee S.J., Klein J., Haagenson M., et al. High resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood.* 2007; 110: 4576–83. DOI: 10.1182/blood-2007-06-097386
14. Woolfrey A., Klein J.P., Haagenson M., et al. HLA-C antigen mismatch is associated with worse outcome in unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011; 17: 885–92. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.09.012
15. Spellman S.R., Eapen M., Logan B.R., et al. A perspective on the selection of unrelated donors and cord blood units for transplantation. *Blood.* 2012; 120: 259–65. DOI: 10.1182/blood-2012-03-379032
16. Kollman C., Spellman S.R., Zhang M.J., et al. The effect of donor characteristics on survival after unrelated donor transplantation for hematologic malignancy. *Blood.* 2016; 127: 260–7. DOI: 10.1182/blood-2015-08-663823
17. Fürst D., Müller 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
18. Jöris M.M., Lankester A.C., von dem Borne P.A., et al. The impact of frequent HLA haplotypes in high linkage disequilibrium on donor search and clinical outcome after unrelated haematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplantation.* 2013; 48: 483–90. DOI: 10.1038/bmt.2012.189
19. BMDS. <http://bmds.1spbgmu.ru>
20. Picardi A., Arcese W., Pollichieni S., et al. The Rome Transplant Network model compared to the Italian Bone Marrow Donor Registry activity for unrelated

- ed donor search process and transplant efficiency for hematologic malignancy. *Transfusion*. 2017; 57(7): 1734–43. DOI: 10.1111/trf.14131
21. Zino E., Vago L., Di Terlizzi S., et al. Frequency and targeted detection of HLA-DPB1 T cell epitope disparities relevant in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007; 13(9): 1031–40. DOI: 10.1016/j.bbmt.2007.05.010
22. Crocchiolo R., Zino E., Vago L., et al. Nonpermissive HLA-DPB1 disparity is a significant independent risk factor for mortality after unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2009; 114(7): 1437–44. DOI: 10.1182/blood-2009-01-200378
23. Fleischhauer K., Shaw B.E., Gooley T., et al. Effect of T-cell-epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haemopoietic-cell transplantation: a retrospective study. *Lancet Oncol*. 2012; 13(4): 366–74. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70004-9
24. DPB1 T-Cell Epitope Algorithm v2.0 (2016-08). <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/dpb>
25. Fernandez-Vina M.A., Klein J.P., Haagenson M., et al. Multiple mismatches at the low expression HLA loci DP, DQ, and DRB3/4/5 associate with adverse outcomes in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2013; 121: 4603–10. DOI: 10.1182/blood-2013-02-481945
26. Passweg J.R., Schanz U., Chalandon Y., et al. High-resolution HLA matching in unrelated donor transplantation in Switzerland: differential impact of class I and class II mismatches may reflect selection of nonimmunogenic or weakly immunogenic DRB1/DQB1 disparities. *Bone Marrow Transplant*. 2015; 50(9): 1201–5. DOI: 10.1038/bmt.2015.129
27. Lazaryan A., Wang T., Spellman R.S., et al. Human leukocyte antigen supertype matching after myeloablative hematopoietic cell transplantation with 7/8 matched unrelated donor allografts: a report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Haematologica*. 2016; 101: 1267–74. DOI: 10.3324/haematol.2016.143271
28. Pidala J., Lee S.J., Ahn K.W., et al. Nonpermissive HLA-DPB1 mismatch increases mortality after myeloablative unrelated allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2014; 124(16): 2596–06. DOI: 10.1182/blood-2014-05-576041
29. Fernandez-Vina M.A., Wang T., Lee S.J., et al. Identification of a permissible HLA mismatch in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2014; 123(8): 1270–8. DOI: 10.1182/blood-2013-10-532671
30. Verneris M.R., Lee S.J., Ahn K.W., et al. HLA mismatch is associated with worse outcomes after unrelated donor reduced-intensity conditioning hematopoietic cell transplantation: an analysis from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015; 21(10): 1783–9. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.05.028
31. Кузьмич Е.В., Алянский А.Л., Иванова Н.Е. и др. Анализ результатов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в зависимости от степени HLA-подбора пациента и неродственного донора. *Онкогематология*. 2014; 9(3): 25–31. DOI: 10.17650/1818-8346-2014-9-3-25-31
32. 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(3): 30–6. DOI: 10.21682/2311-1267-2016-3-3-30-36
33. Ciurea S.O., Cao K., Fernandez-Vina M., et al. The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Consensus Guidelines for the Detection and Treatment of Donor-specific Anti-HLA Antibodies (DSA) in Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2018; 53(5): 521–34. DOI: 10.1038/s41409-017-0062-8
- ed donor search process and transplant efficiency for hematologic malignancy. *Transfusion*. 2017; 57(7): 1734–43. DOI: 10.1111/trf.14131
21. Zino E., Vago L., Di Terlizzi S., et al. Frequency and targeted detection of HLA-DPB1 T cell epitope disparities relevant in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007; 13(9): 1031–40. DOI: 10.1016/j.bbmt.2007.05.010
22. Crocchiolo R., Zino E., Vago L., et al. Nonpermissive HLA-DPB1 disparity is a significant independent risk factor for mortality after unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2009; 114(7): 1437–44. DOI: 10.1182/blood-2009-01-200378
23. Fleischhauer K., Shaw B.E., Gooley T., et al. Effect of T-cell-epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haemopoietic-cell transplantation: a retrospective study. *Lancet Oncol*. 2012; 13(4): 366–74. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70004-9
24. DPB1 T-Cell Epitope Algorithm v2.0 (2016-08). <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/dpb>
25. Fernandez-Vina M.A., Klein J.P., Haagenson M., et al. Multiple mismatches at the low expression HLA loci DP, DQ, and DRB3/4/5 associate with adverse outcomes in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2013; 121: 4603–10. DOI: 10.1182/blood-2013-02-481945
26. Passweg J.R., Schanz U., Chalandon Y., et al. High-resolution HLA matching in unrelated donor transplantation in Switzerland: differential impact of class I and class II mismatches may reflect selection of nonimmunogenic or weakly immunogenic DRB1/DQB1 disparities. *Bone Marrow Transplant*. 2015; 50(9): 1201–5. DOI: 10.1038/bmt.2015.129
27. Lazaryan A., Wang T., Spellman R.S., et al. Human leukocyte antigen supertype matching after myeloablative hematopoietic cell transplantation with 7/8 matched unrelated donor allografts: a report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Haematologica*. 2016; 101: 1267–74. DOI: 10.3324/haematol.2016.143271
28. Pidala J., Lee S.J., Ahn K.W., et al. Nonpermissive HLA-DPB1 mismatch increases mortality after myeloablative unrelated allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2014; 124(16): 2596–06. DOI: 10.1182/blood-2014-05-576041
29. Fernandez-Vina M.A., Wang T., Lee S.J., et al. Identification of a permissible HLA mismatch in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2014; 123(8): 1270–8. DOI: 10.1182/blood-2013-10-532671
30. Verneris M.R., Lee S.J., Ahn K.W., et al. HLA mismatch is associated with worse outcomes after unrelated donor reduced-intensity conditioning hematopoietic cell transplantation: an analysis from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015; 21(10): 1783–9. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.05.028
31. Kuzmich E.V., Alyanskiy A.L., Ivanova N.E., et al. Analysis of the results of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation depending on HLA matching of the unrelated donor/recipient pair. *Onkogematologiya*. 2014; 9(3): 25–31 [In Russian]. DOI: 10.17650/1818-8346-2014-9-3-25-31
32. Afanasiev B.V., Zubarovskaya L.S., Alyanskiy A.L., et al. Selection of donor of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Rossiyskiy Jurnal detskoi gematologii i onkologii*. 2016; 3(3): 30–6 [In Russian]. DOI: 10.21682/2311-1267-2016-3-3-30-36
33. Ciurea S.O., Cao K., Fernandez-Vina M., et al. The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Consensus Guidelines for the Detection and Treatment of Donor-specific Anti-HLA Antibodies (DSA) in Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2018; 53(5): 521–34. DOI: 10.1038/s41409-017-0062-8

34. Cooley S., Trachtenberg E., Bergemann T.L., et al. Donors with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2009; 113(3): 726–32. DOI: 10.1182/blood-2008-07-171926
35. Хамаганова Е.Г., Паровичникова Е.Н., Кузьмина Л.А. и др. Влияние генов киллерных иммуноглобулинподобных рецепторов и их HLA-лигандов на выживаемость больных острыми миелоидными лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология*. 2015; 3: 16–21.
36. Cooley S., Weisdorf D.J., Guethlein L.A., et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2010; 116(14): 2411–9. DOI: 10.1182/blood-2010-05-283051
37. Масчан М.А. Деплеция альфа/бета Т-лимфоцитов — надежная платформа для развития трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от гаплоидентичных доноров. *Российский журнал детской гематологии и онкологии*. 2015; 2 (3): 34–8. DOI: 10.17650/2311-1267-2015-2-3-34–38
38. Fuchs E.J. Haploidentical transplantation for hematologic malignancies: where do we stand? *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2012; 2012: 230–6. DOI: 10.1182/asheducation-2012.1.230
39. Ciurea S., Al Malki M.M., Fuchs E.J., et al. The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) consensus recommendations for donor selection in haploidentical hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2019. DOI: 10.1038/s41409-019-0499-z
40. van Rood J.J., Loberiza Jr. FR., Zhang M.J., et al. Effect of tolerance to non-inherited maternal antigens on the occurrence of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation from a parent or an HLA-haploidentical sibling. *Blood*. 2002; 99: 1572–7. DOI: 10.1182/blood.V99.5.1572
41. Wang Y., Chang Y.J., Xu L.P., et al. Who is the best donor for a related HLA haplotype-mismatched transplant? *Blood*. 2014; 124(6): 843–50. DOI: 10.1182/blood-2014-03-563130
42. Ruggeri L., Mancusi A., Capanni M., et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood*. 2007; 110: 433–40. DOI: 10.1182/blood-2006-07-038687
43. Shimoni A., Labopin M., Lorentino F., et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor ligand mismatching and outcome after haploidentical transplantation with post-transplant cyclophosphamide. *Leukemia*. 2019; 33(1): 230–9. DOI: 10.1038/s41375-018-0170-5
44. Eapen M., Klein J.P., Ruggeri A., et al. Impact of allele-level HLA matching on outcomes after myeloablative single unit umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Blood*. 2014; 123(1): 133–40. DOI: 10.1182/blood-2013-05-506253
45. van Rood J.J., Stevens C.E., Smits J., et al. Re-exposure of cord blood to non-inherited maternal HLA antigens improves transplant outcome in hematological malignancies. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106: 19952–7. DOI: 10.1073/pnas.0910310106
46. Rocha V., Spellman S., Zhang M.J., et al. Effect of HLA-matching recipients to donor noninherited maternal antigens on outcomes after mismatched umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012; 18: 1890–6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2012.07.010
47. Cutler C., Kim H.T., Sun L., et al. Donor-specific anti-HLA antibodies predict outcome in double umbilical cord blood transplantation. *Blood*. 2011; 118: 6691–7. DOI: 10.1182/blood-2011-05-355263
34. Cooley S., Trachtenberg E., Bergemann T.L., et al. Donors with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2009; 113(3): 726–32. DOI: 10.1182/blood-2008-07-171926
35. Khamaganova E.G., Parovichnikova E.N., Kuzmina L.A., et al. Effects of killer immunoglobulin-like receptor genes and their HLA-ligands on survival of patients with acute myeloid leukemias after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Gematologiya i Transfuziologiya*. 2017; 62(1): 29–32 (In Russian).
36. Cooley S., Weisdorf D.J., Guethlein L.A., et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2010; 116(14): 2411–9. DOI: 10.1182/blood-2010-05-283051
37. Maschan M.A. Depletion of alpha/beta-T-cells is a robust platform for haploidentical hematopoietic stem cell transplantation results improvement. *Rossiyskiy Jurnal detskoi gematologii i onkologii*. 2015; 2(3): 34–8 (In Russian). DOI: 10.17650/2311-1267-2015-2-3-34-38
38. Fuchs E.J. Haploidentical transplantation for hematologic malignancies: where do we stand? *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2012; 2012: 230–6. DOI: 10.1182/asheducation-2012.1.230
39. Ciurea S., Al Malki M.M., Fuchs E.J., et al. The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) consensus recommendations for donor selection in haploidentical hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2019. DOI: 10.1038/s41409-019-0499-z
40. van Rood J.J., Loberiza Jr. FR., Zhang M.J., et al. Effect of tolerance to non-inherited maternal antigens on the occurrence of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation from a parent or an HLA-haploidentical sibling. *Blood*. 2002; 99: 1572–7. DOI: 10.1182/blood.V99.5.1572
41. Wang Y., Chang Y.J., Xu L.P., et al. Who is the best donor for a related HLA haplotype-mismatched transplant? *Blood*. 2014; 124(6): 843–50. DOI: 10.1182/blood-2014-03-563130
42. Ruggeri L., Mancusi A., Capanni M., et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood*. 2007; 110: 433–40. DOI: 10.1182/blood-2006-07-038687
43. Shimoni A., Labopin M., Lorentino F., et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor ligand mismatching and outcome after haploidentical transplantation with post-transplant cyclophosphamide. *Leukemia*. 2019; 33(1): 230–9. DOI: 10.1038/s41375-018-0170-5
44. Eapen M., Klein J.P., Ruggeri A., et al. Impact of allele-level HLA matching on outcomes after myeloablative single unit umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Blood*. 2014; 123(1): 133–40. DOI: 10.1182/blood-2013-05-506253
45. van Rood J.J., Stevens C.E., Smits J., et al. Re-exposure of cord blood to non-inherited maternal HLA antigens improves transplant outcome in hematological malignancies. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106: 19952–7. DOI: 10.1073/pnas.0910310106
46. Rocha V., Spellman S., Zhang M.J., et al. Effect of HLA-matching recipients to donor noninherited maternal antigens on outcomes after mismatched umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012; 18: 1890–6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2012.07.010
47. Cutler C., Kim H.T., Sun L., et al. Donor-specific anti-HLA antibodies predict outcome in double umbilical cord blood transplantation. *Blood*. 2011; 118: 6691–7. DOI: 10.1182/blood-2011-05-355263

Информация об авторах

Хамаганова Екатерина Георгиевна*, заведующая лабораторией тканевого типирования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: Khamaganova.e@blood.ru, тел.: +7 (495) 612-43-02; 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0110-3314>

Кузьмина Лариса Анатольевна, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: Kuzmina.l@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 03.04.2019

Принята к печати: 14.05.2019

Information about the authors

Ekaterina G. Khamaganova*, Head of the Tissue Typing Laboratory, National Research Centre for Hematology, e-mail: Khamaganova.e@blood.ru, tel.: +7 (495) 612-43-02; 125167, Moscow, Novyy Zykovskiy proezd, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0110-3314>

Larisa A. Kuzmina, Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Centre for Hematology, e-mail: Kuzmina.l@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

*** Corresponding author**

Received 03 Apr 2019

Accepted 14 May 2019

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ МИЕЛОФИБРОЗЕ

Грибкова И. В.^{1,*}, Олейник Ю. А.², Шалаев С. А.², Давыдовская М. В.^{1,3}, Кокушкин К. А.¹

¹ ГБУ «Научно-практический центр клинических исследований и оценки медицинских технологий» Департамента здравоохранения г. Москвы, 121096, Москва, Россия

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197768, Санкт-Петербург, Россия

³ ФБОУ «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Руксолитиниб — препарат для патогенетического лечения миелофиброза (МФ). В настоящее время разработаны новые препараты для лечения МФ. Поиск оптимальных комбинаций этих препаратов с руксолитинибом представляется логичным подходом к разработке терапии МФ.

Цель настоящего обзора: систематизация данных о применении руксолитиниба у больных МФ в комбинациях с препаратами, которые одобрены или в настоящее время находятся на стадии исследования для лечения МФ.

Основные сведения. В обзор вошли данные статей, найденные в базах данных PubMed и Elibrary.ru, включая клинические случаи, оригинальные научные исследования и обзоры. Обсуждаются предварительные результаты клинических исследований различных рациональных комбинаций, которые могут улучшать формы болезни, не поддающиеся лечению при монотерапии руксолитинибом, например такие, как фиброз костного мозга и анемия. Наиболее обнадеживающие результаты получены при комбинациях азацитидина с руксолитинибом, панобиностата с руксолитинибом, интерферона α с руксолитинибом.

Ключевые слова: миелофиброз, руксолитиниб, комбинированная терапия

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Грибкова И.В., Олейник Ю.А., Шалаев С.А., Давыдовская М.В., Кокушкин К.А. Комбинированная терапия при миелофиброзе. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2):188–197. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-188-197>

COMBINATION THERAPY FOR MYELOFIBROSIS

Gribkova I. V.^{1,*}, Oleinik Yu. A.², Shalaev S. A.², Davydovskaya M. V.^{1,3}, Kokushkin K. A.¹

¹ Scientific Practical Centre for Clinical Research and Assessment of Medical Technologies, 121096, Moscow, Russian Federation

² N.N. Petrov National Medical Research Centre for Oncology, 197768, St. Petersburg, Russian Federation

³ Pirogov Medical University, 117997, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Ruxolitinib presents itself as a drug for the pathogenetic treatment of myelofibrosis (MF). New drugs have recently been developed for the treatment of MF. A search for optimal combinations of these drugs with ruxolitinib appears to be a logical approach to the development of MF therapy.

Aim. To summarize data on the use of ruxolitinib in combination with various drugs approved or currently being studied in terms of their applicability for MF treatment.

General findings. The review analyses data in publications retrieved from the PubMed and Elibrary.ru databases, including clinical cases, original research papers and reviews. We discuss preliminary results of clinical trials of various rational combination therapies, which have demonstrated a high efficacy for the forms of the disease untreatable with ruxolitinib monotherapy, e.g. bone marrow fibrosis and anemia. Combinations of ruxolitinib with azacytidine, panobinostat and α -interferon have shown the most promising results.

Keywords: myelofibrosis, ruxolitinib, combination therapy

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Gribkova I.V., Oleinik Yu.A., Shalaev S.A., Davydovskaya M.V., Kokushkin K.A. Combination therapy for myelofibrosis. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(2):188–197 [in Russian]. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-188-197>

Введение

Миелофиброз (МФ) — это Ph-негативное миело-пролиферативное новообразование, которое патогенетически характеризуется дерегуляцией Янус киназы (Janus kinase — JAK), активаторов транскрипции JAK/STAT сигнального пути, а также гиперэкспрессией цитокинов. Руксолитиниб — ингибитор JAK киназ является препаратом для патогенетического лечения этого заболевания, одобренным на основе двух рандомизированных исследований III фазы, которые продемонстрировали клинически значимое уменьшение размеров селезенки, выраженности симптомов, улучшение качества жизни и повышение выживаемости при длительном применении [1, 2].

Однако руксолитиниб может вызывать серьезные побочные явления. Наиболее частыми негематологическими побочными эффектами (преимущественно 1-й и 2-й степени), ассоциированными с приемом руксолитиниба, являлись эхиимозы, головокружение и голов-

ная боль [3]. Сообщалось, что у больных, получающих руксолитиниб, возникали инфекционные осложнения [3]. Наиболее распространенными гематологическими побочными эффектами лечения руксолитинибом были анемия и тромбоцитопения [3]. Существуют данные, что 60 % больных прекратили терапию руксолитинибом в течение 3 лет после начала лечения из-за развившихся побочных эффектов или потери ответа на лечение [4, 5]. К тому же терапия руксолитинибом не является радикальным методом лечения заболевания, поскольку она не приводит к существенному уменьшению частоты аллелей JAK2 V617F или фиброза костного мозга [6]. Таким образом, сохраняется потребность в поиске новых, эффективных стратегий лечения МФ.

В последнее время достигнуты определенные успехи в понимании молекулярного патогенеза МФ. Установлено, что, хотя активация сигнального пути JAK-STAT занимает центральное место в патогенезе

заболевания, альтернативные пути также могут играть роль в развитии МФ [7, 8]. Это позволило определить дополнительные мишени для исследования. Они включают гистондеацетилазу, гипометилирующие агенты, секреторные белки семейства Hedgehog, теломеразу, пути PI3K/AKT, профиброгенные и воспалительные цитокины, а также иммунную дерегуляцию [9]. Новые препараты, влияющие на эти пути, и их рациональные комбинации с ингибиторами JAK, могут значительно улучшить результаты лечения МФ.

В настоящее время несколько новых ингибиторов JAK (пакритиниб, момелотиниб, NS018 и LY27A45445) проходят клинические испытания [9]. Однако, учитывая отсутствие окончательного решения в отношении данных препаратов и в то же время установленную безопасность и эффективность руксолитиниба при известных его ограничениях, поиск оптимальных лекарств для комбинаций с руксолитинибом представляется наиболее логичным подходом к разработке терапии МФ [6].

Цель настоящего обзора — анализ результатов современных исследований комбинированной терапии больных МФ.

Ингибиторы гистондеацетилазы

Гистондеацетилазы (HDAC) — ферменты, модифицирующие гистоны и изменяющие конформацию хроматина, играют важную роль в регуляции экспрессии генов. В качестве монотерапии МФ в исследованиях фазы I/II были изучены различные ингибиторы HDAC [9]. Примером таких ингибиторов является панобиностат, который ингибирует сигнализацию JAK, нарушая взаимодействие между JAK2 и белком теплового шока 90. Монотерапия панобиностатом приводила к уменьшению выраженности спленомегалии и фиброзных изменений стромы костного мозга в исследованиях I/II фазы у больных МФ [10]. Комбинацию руксолитиниба и панобиностата исследовали в моделях на мышах, где она продемонстрировала синергетический эффект и уменьшение выраженности фиброза стромы костного мозга [11]. Это послужило основанием для начала клинических исследований эффективности комбинированной терапии ингибитором JAK с ингибитором HDAC.

Предварительные результаты одного из этих исследований [12] были обнадеживающими. Все больные получали комбинированную терапию: руксолитиниб в дозе 5–15 мг 2 раза в день и панобиностат в дозе 10–25 мг 3 раза в неделю (на 2, 4 и 6-й дни). Было показано уменьшение размеров селезенки $\geq 35\%$ у 57 и 39 % больных (из общего числа больных $n = 23$) на 24 и 48 неделях соответственно, что является более благоприятным по сравнению с 42 и 32 % больных, получавших монотерапию руксолитинибом и достигших той же конечной точки в исследованиях COMFORT-I и COMFORT-II [1, 2]. В исследовании [12] также упоминается об умень-

шении фиброзных изменений костного мозга у 4 (33 %) из 12 больных и о $\geq 20\%$ снижении аллельной нагрузки JAK2V617F у 29 % на 48 неделе лечения. Аллельная нагрузка JAK2V617F оценивалась с помощью количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени, проводимой на ДНК, очищенной из гранулоцитов периферической крови, в соответствии с рекомендациями, изложенными в работе [13]. Эти результаты превосходят результаты, полученные при монотерапии руксолитинибом. Наиболее распространенными нежелательными явлениями (НЯ) были анемия, тромбоцитопения и диарея. Спектр зарегистрированных НЯ и частота НЯ соответствовали тем, которые наблюдались при монотерапии руксолитинибом и панобиностатом. Для окончательных выводов необходимы более длительное наблюдение и большее число больных, исследование продолжается.

Гипометилирующие агенты

Регулирование транскрипции в соматических клетках во многом зависит от уровня метилирования ДНК [9], аномалии метилирования часты при МФ [6]. В клиническом исследовании ингибитора метилтрансферазы ДНК азациитидина, применявшегося в дозе 75 мг/м² в день в течение 7 дней, был получен ответ у 24 % больных (частичный ответ — у 3 % и клиническое улучшение — у 21 %) в когорте из 34 больных МФ (76 % из них лечились ранее). Ответы наблюдались как у больных с мутацией JAK2V617F, так и без нее [9]. Различный механизм действия свидетельствует о возможности улучшения результатов лечения при проведении комбинированной терапии руксолитинибом с азациитидином в низких дозах у больных МФ [9].

В исследовании, в котором изучали эффективность комбинации руксолитиниба с азациитидином [14], больные получали монотерапию руксолитинибом (15 мг перорально дважды в день (если количество тромбоцитов было $(100-200) \times 10^9/\text{л}$) или 20 мг дважды в день (если количество тромбоцитов было $>200 \times 10^9/\text{л}$)) циклами по 28 дней в течение первых 3 месяцев, затем следовало добавление азациитидина (25 мг/м² в дни 1–5 каждого 28-дневного цикла), начиная с 4-го цикла. Доза азациитидина могла быть постепенно увеличена до 75 мг/м². В исследовании отмечено уменьшение размера селезенки более чем на 50 % у 48 % больных на 24-й неделе терапии, при этом в целом более 50 % уменьшения размеров селезенки в любой момент исследования достигли 79 % больных. Частота ответа на лечение по Международной шкале оценки прогноза IWG-MRT 2013 [15] составила 69 % из 41 больного. Аллельная нагрузка JAK2V617F уменьшилась у 87 % больных, имевших мутацию JAK2, а показатель фиброза в костном мозге по EUMNET [16] уменьшился у 41 % больных. Это выгодно отличается от результатов монотерапии руксолитинибом, но требуются большее количество больных и более длительные сроки наблюдения для подтверждения результатов.

Возможно, этот режим может быть полезен у больных с большим количеством бластных клеток в костном мозге. Из НЯ были выявлены анемия и тромбоцитопения 3–4-й степени, но они компенсировались модификацией дозы, только один больной прекратил лечение из-за длительной цитопении.

Применение комбинированной терапии децитабина с руксолитинибом у больных, находившихся в фазе акселерации и бластной фазе МФ, было оценено в двух исследованиях. В исследовании фазы IB R. Rampal и соавт. [17] ответ на лечение был получен только у 7 (33 %) из 21 больного. Доза руксолитиниба в этом исследовании была увеличена с 15 мг два раза в день до 50 мг два раза в день, без установления максимально переносимой дозы. В другом исследовании фазы IB [18] P. Bose и соавт. отметили ответ у 5 из 12 (42 %) больных, получавших децитабин и руксолитиниб. Больные получали руксолитиниб, дозу которого увеличивали от 10 до 50 мг дважды в день, а рекомендуемая доза руксолитиниба фазы II была 50 мг два раза в день в сочетании со стандартной дозой децитабина.

Ингибиторы секреторных белков семейства Hedgehog

Секреторные белки семейства Hedgehog играют важную роль в регуляции клеточной дифференцировки в процессе эмбриогенеза, а также стимулируют пролиферацию опухолевых клеток [19]. Таким образом, сигнальный путь Hedgehog может быть потенциальной мишенью терапии МФ.

В экспериментальной модели МФ, воспроизведенной на мышах, руксолитиниб в комбинации с ингибитором пути Hedgehog сонидегибом уменьшал выраженность спленомегалии и фиброза костного мозга по сравнению с монотерапией руксолитинибом [9]. Эти данные послужили основанием для проведения клинических испытаний IB–II фазы по изучению эффективности терапии ингибиторами пути Hedgehog в сочетании с руксолитинибом. В этом исследовании определены оптимальные дозы препаратов: сонидегиб 400 мг 1 раз в сутки и руксолитиниб 20 мг 2 раза в сутки. Исследование сочетания сонидегиба и руксолитиниба у 27 больных МФ промежуточного/высокого риска по Международной шкале оценки прогноза [15] показало, что у 44,4 % больных было достигнуто уменьшение объема селезенки на 35 % и более в течение 24 недель и у 55,6 % уменьшение объема селезенки этой степени достигалось в любой момент исследования [20]. Комбинированная терапия хорошо переносилась. НЯ, требующие коррекции дозы или прерывания лечения, были отмечены у 17 (63 %) больных, причем наиболее распространенными были увеличение сывороточной концентрации креатинкиназы (19 %, $n = 5$) и миалгии (19 %, $n = 5$). Среднее изменение в аллельной нагрузке JAK2 V617F составляло –9,0 % (ди-

апазон от –56,5 до 7,0 %) от исходного уровня к концу 24-й недели лечения. При оценке выраженности фиброза костного мозга у 2 больных отмечено уменьшение (с 3-й до 2-й степени), у 8 больных выраженность фиброза не изменилась, у 3 больных к концу 24-й недели лечения выраженность фиброза стала больше. Исследование продолжается для долгосрочного наблюдения за зарегистрированными больными.

Ингибиторы сигнального пути PI3K / AKT / mTOR

PI3K/AKT/mTOR — внутриклеточный сигнальный путь, центральными компонентами которого являются фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K), киназа AKT и мишень рапамицина млекопитающих (mTOR). Это — один из универсальных сигнальных путей, характерных для большинства клеток человека. Он отвечает за «уход» от апоптоза, рост, пролиферацию клеток, метаболизм [19].

Предварительные данные свидетельствуют о том, что ингибирование пути PI3K/AKT/mTOR оказывает положительные эффекты при МФ [6, 9]. Эти данные побудили начать клиническое исследование фазы IB в отношении комбинации руксолитиниба и бупарлисиба — блокатора пути PI3K. Целями этого исследования [21] были подбор максимальных переносимых доз руксолитиниба и бупарлисиба, оценка эффективности и переносимости терапии больными МФ промежуточного или высокого риска. Исследование проведено на репрезентативных выборках: 22 больных МФ не получали терапию ингибиторами JAK2 (группа А) и 20 больных получали руксолитиниб ранее (группа В). Доза руксолитиниба была 15 мг внутрь 2 раза в сутки, бупарлисиба — 60 мг внутрь ежедневно. В целом у 82 % (18 из 22) и 55 % (11 из 20) больных в группах А и В соответственно достигнуто уменьшение размеров селезенки на 50 % и более от исходных в любой момент исследования, в том числе у 15 (36 %) больных размеры селезенки нормализовались (12 — в группе А и 3 — в группе В). На 24-й неделе терапии у 55 и 20 % больных в группах А и В соответственно отмечено ≥ 50 % уменьшение размеров селезенки, определяемых пальпаторно. К 24-й неделе терапии медиана снижения аллельной нагрузки JAK2V617F по сравнению с исходными значениями составила 3,35 (диапазон 26,9–2,7) в группе А и 0,60 (диапазон 12,6–24,7) в группе В. Переносимость комбинированной терапии была удовлетворительная. Гематологическая токсичность 3–4-й степени представлена анемией (2 из 22 больных в группе А и 7 из 20 в группе В) и тромбоцитопенией (5 из 22 и 6 из 20 больных в группах А и В соответственно). После 24 недель лечения у 4 больных ($n = 3$ в группе А; 1 в группе В) установлено уменьшение степени выраженности фиброза костного мозга, у 19 больных ($n = 9$ в группе А; 10 в группе

В) имела место стабилизация, у 2 больных в группе А (0 в группе В) отмечено ухудшение.

В другом исследовании [22] оценивали эффективность комбинации руксолитиниба с ингибитором пути PI3K — TGR-1202. Комбинация препаратов хорошо переносилась больными. Распространенными НЯ были анемия 2 степени и повышение сывороточных концентраций амилазы и липазы. Не было обнаружено гепатотоксичности, колита или тромбоцитопении ≥ 3 степени. У одного из 9 больных, участвовавших в исследовании, была достигнута полная ремиссия, у 7 — стабилизация заболевания. У 7 из 9 больных улучшились гематологические показатели, у 8 — уменьшились симптомы МФ. Данные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейшего исследования этой комбинации.

Антифибротические препараты

Антифибротические препараты, будучи введенными в организм, выполняют функцию эндогенных белков, которые активируются при повреждении местных тканей и стимулируют дифференцировку макрофагов и моноцитов с последующим обратным развитием фиброза [19]. В клинических исследованиях II фазы применение антифибротического препарата пентраксина-2 (PRM-151) привело к регрессии фиброза костного мозга, нормализации показателей гемограммы, уменьшению симптомов интоксикации и размеров селезенки. Исследование включало 27 больных МФ, получавших либо монотерапию PRM-151, либо PRM-151 в сочетании с руксолитинибом [23, 24]. Комбинация препаратов хорошо переносилась. У 13 больных, которые получали терапию не менее 72 недель, наиболее часто встречающимися побочными эффектами были: усталость (4), тошнота (3), лихорадка (3), кашель (2), диарея (2), зубная инфекция (2), головная боль (2), верхняя респираторная инфекция (2), гипергликемия (2) и гиперурикемия (2). Более чем у 70 % больных отмечено уменьшение показателя фиброза в костном мозге как минимум на 1 степень в любой момент исследования. Более чем у 60 % больных наблюдалось уменьшение выраженности спленомегалии, а также симптомов, обусловленных заболеванием: увеличения количества тромбоцитов и концентрации гемоглобина крови, уменьшение потребности в гемотрансфузиях. Оптимальные ответы наблюдались у больных, у которых было завершено лечение в течение 72 недель, независимо от того, получали ли они монотерапию PRM-151 или в сочетании с руксолитинибом.

Интерферон- α

Одним из направлений терапии МФ является лечение интерфероном- α , который успешно используется на протяжении десятилетий. В основе лечебного действия интерферона- α лежит опосредованное цитокинами подавление патологической миелопролиферации, приводящее к уменьшению количества тромбо-

цитов, лейкоцитов и эритроцитов крови. Он является также ингибитором продуцируемого тромбоцитами ростового фактора (Platelet-Derived Growth Factor b — PDGF-b), поэтому можно ожидать, что он будет оказывать сдерживающее действие на развитие МФ. Доказана способность интерферона- α подавлять рост эритроидных предшественников *in vivo* и *in vitro*, а также вызывать морфологические изменения в мегакариоцитах. Использование препаратов интерферона рекомендуется для лечения молодых больных, находящихся на ранней стадии заболевания, однако 10–20 % больных вынуждены отказаться от приема препарата из-за его непереносимости или недостаточной эффективности [25]. Руксолитиниб показал высокую эффективность с точки зрения улучшения качества жизни больных МФ за счет уменьшения размеров селезенки и выраженности симптомов, опосредованных медиаторами воспаления. Поскольку сопутствующее воспаление может ослаблять эффективность терапии интерфероном- α , комбинация с руксолитинибом, сильным противовоспалительным агентом, может быть более эффективной, чем монотерапия интерфероном- α .

Результаты клинических исследований данной комбинированной терапии представлены в нескольких работах [26, 27]. Большинство включенных в исследование больных были резистентны к монотерапии интерфероном- α . На момент включения в исследование проводилась терапия интерфероном- α 45 мкг 1 раз в неделю (Pegasys®, Genentech (Roche), США) или 35 мкг 1 раз в неделю (PegIntron®, Merck Sharp & Dohme, Hertfordshire, Великобритания) + руксолитиниб по 20 мг 2 раза в сутки, доза руксолитиниба зависела от количества тромбоцитов крови. Дозы и схемы дозирования в дальнейшем были изменены в зависимости от токсичности или эффективности. У подавляющего числа больных отмечалось исчезновение симптомов опухолевой интоксикации, уменьшились размеры селезенки, определяемые пальпаторно, был достигнут контроль гематокрита без кровопусканий. У больных МФ полная или частичная ремиссия была достигнута в 39 % случаев, а полный клинико-гематологический ответ — в 58 %. Медиана аллельной нагрузки JAK2V617F значительно уменьшилась. Наиболее распространенными были гематологические НЯ, которые корректировались снижением дозы. Авторы делают заключение о том, что комбинированная терапия интерфероном- α и руксолитинибом была эффективна и удовлетворительно переносилась больными МФ, относящимися к группам низкого/промежуточного риска, в частности при неэффективности или непереносимости монотерапии интерфероном- α .

Однако роль руксолитиниба в популяции больных МФ из группы низкого риска еще не определена. Кроме того, существует опасность, что сочетание интерферона- α и руксолитиниба может приводить к увеличению частоты миелосупрессии и что интерферон- α

может привести к ухудшению симптомов, связанных с заболеванием, и тем самым компенсировать положительный эффект руксолитиниба [28].

Уменьшение выраженности анемии

Больные МФ часто страдают от конституциональных симптомов, т.е. относящихся ко всему организму в целом, спленомегалии и цитопении. Лекарственная терапия ингибиторами JAK приводит к уменьшению выраженности спленомегалии, а также конституциональных симптомов, однако цитопения при этом остается серьезной проблемой. Для решения проблемы неэффективного эритропоэза у больных МФ и анемией необходимы альтернативные препараты [9].

Анемия у больных МФ является полиэтиологической, она — один из самых распространенных симптомов заболевания. Анемия является главным поводом для начала терапии [25]. Различные препараты (например, даназол, иммуномодулирующие препараты) были эффективны для лечения анемии в виде монотерапии. В связи с этим были начаты клинические исследования комбинированной терапии руксолитиниба с этими препаратами.

В исследовании [29] оценивали эффективность и переносимость комбинированной терапии руксолитинибом и даназолом. Исследование включало 14 больных МФ из группы среднего или высокого риска. Больные получали руксолитиниб по 10 мг 2 раза в день (при количестве тромбоцитов $>75 \times 10^9/\text{л}$) или по 5 мг 2 раза в день (при количестве тромбоцитов $<75 \times 10^9/\text{л}$). Руксолитиниб назначали в комбинации с даназолом: 200 мг внутрь 3 раза в день. Были получены следующие ответы по критериям IWG-MRT: стабилизация заболевания у 9 больных (64,2 %), клиническое улучшение у 3 (21,4 %) (уменьшение размеров селезенки), частичный ответ у 1 (7,1 %) и прогрессирование заболевания у 1 (7,1 %) больного. Несмотря на ограниченный ответ по IWG-MRT, была установлена стабилизация выраженности анемии и тромбоцитопении. Больные, ранее не принимавшие ингибиторы JAK (80 %), имели стабильную или увеличивающуюся концентрацию гемоглобина. У 5 (55,5 %) из 9 больных, получавших ранее терапию ингибиторами JAK, наблюдалась стабильная или повышенная концентрация гемоглобина, а у 8 больных (88,9 %) — стабильная или повышенная концентрация тромбоцитов. НЯ, связанные с гематологической токсичностью 3 степени или выше, наблюдались у 10 (71,4 %) больных, с негематологической токсичностью — у 2 (14,3 %) больных. Хотя комбинированная терапия не приводила к увеличению гематологического ответа по критериям IWG-MRT, наблюдалась гематологическая стабилизация.

В другом исследовании [30] оценивали эффективность и безопасность комбинированной терапии руксолитинибом и помалидомидом. В работе представлены данные о 24 больных МФ промежуточного-1, промежу-

точного-2 и высокого риска по прогностической шкале DIPSS. У всех больных была анемия, у 6 из них отмечалась гемотрансфузионная зависимость. Помалидомид назначали в фиксированной дозировке 0,5 мг 1 раз в день, дозу руксолитиниба, начиная с 10 мг дважды в день, изменяли с целью оптимизации эффективности и уменьшения токсичности. Средняя продолжительность лечения составляла 8 циклов по 28 дней (диапазон 1–13 циклов). За время проведения клинического исследования зарегистрировано 287 НЯ любой степени тяжести. Самые частые: увеличение степени анемии, боль в мышцах, появление конституциональных симптомов. За короткий срок наблюдения у 3 больных достигнуто клиническое улучшение в соответствии с критериями IWG-MRT: 1) уменьшение селезенки; 2) уменьшение объема селезенки + увеличение концентрации гемоглобина; 3) увеличение концентрации гемоглобина, гранулоцитов, эритроцитов. Больные оставались зависимыми от гемотрансфузий, но ни в одном случае не было зарегистрировано прогрессии заболевания. Исследование продолжается с планом проведения промежуточного анализа результатов лечения первых 37 больных, рассматривается увеличение дозы помалидомида во второй фазе исследования.

В исследовании комбинированной терапии леналидомидом и руксолитинибом [31] больным назначали 15 мг руксолитиниба перорально два раза в день в непрерывных 28-дневных циклах в сочетании с 5 мг леналидомида перорально один раз в день в дни 1–21. Ответ на терапию в виде уменьшения размеров селезенки отмечен у 55 % больных, среднее время ответа составило 1,8 месяца (диапазон 0,4–31). Уменьшение выраженности фиброза костного мозга отмечено у 17 % больных. Однако данная комбинация привела к чрезмерной миелосупрессии, что явилось причиной преждевременного прекращения терапии у большинства больных. Авторы [31] полагают, что стратегия последовательной, а не совместной терапии, потенциально могла бы быть более безопасной.

PI3K-киназы и циклинзависимые (CDK) киназы

Протеинкиназа PI3K — проонкогенный белок, важный для патогенеза опухолей системы крови. Фермент PI3K-1 (от proviral integration Moloney virus) защищает клетки от апоптоза. Этот механизм способствует злокачественной трансформации клеток. Циклинзависимые киназы (англ. cyclin-dependent kinases, CDK) — группа белков, регулируемых циклином и циклиноподобными молекулами. Большинство циклинзависимых киназ участвуют в смене фаз клеточного цикла; также они регулируют транскрипцию и процессинг мРНК.

Синергизм между руксолитинибом и ингибитором CDK4/6 рибоциклибом был недавно продемонстрирован в моделях *in vivo* [32]. Как показано в этом

исследовании, он еще больше усиливается добавлением ингибитора киназы PIM — PIM447. В Европе проводится клиническое исследование эффективности этой тройной комбинации лекарств у больных МФ.

Гидроксикарбамид

Лейкоцитоз является частым осложнением у больных МФ. Нет данных об эффективности руксолитиниба в устранении лейкоцитоза. Недавнее исследование, проведенное в большой когорте больных МФ, показало эффективность терапии гидроксикарбамидом у больных с лейкоцитозом более $25 \times 10^9/\text{л}$ [33]. В клиническом описании [34] применения комбинации руксолитиниба и гидроксикарбамида у больного МФ промежуточного риска с лейкоцитозом приводятся обнадеживающие данные. Гидроксикарбамид в дозе 500 мг/день назначался дополнительно к продолжающемуся лечению руксолитинибом во время эпизодов лейкоцитоза. При этом достигалось уменьшение количества лейкоцитов крови до нормальных значений в течение 3–4 месяцев. Во время комбинированного лечения руксолитинибом и гидроксикарбамидом улучшалось клиническое состояние и уменьшалась выраженность симптомов. Не было зарегистрировано инфекционных осложнений и других побочных эффектов.

Цитарабин и меркаптопурин у больных с бластным кризом

2 клинических случая применения комбинированной терапии у больных с бластным кризом МФ приведены

в статье М.С. Фоминых и соавт. [35]. Терапия руксолитинибом в комбинации с малыми дозами цитарабина (20 мг подкожно 2 раза в день в течение 5 дней, каждые 28 дней) или меркаптопурин (50 мг 1 раз в день, каждые 28 дней) приводила к улучшению состояния больных: уменьшению симптомов опухолевой интоксикации, размеров селезенки, гемотрансфузионной зависимости. Из осложнений наблюдали пневмонию, которая разрешилась после проведенной антибактериальной терапии.

Таким образом, в последнее десятилетие достигнут значительный прогресс в понимании патофизиологии МФ и сигнальных путей, которые независимо или совместно с JAK-STAT играют роль в развитии этого заболевания. Проводятся клинические исследования различных рациональных комбинаций препаратов, действующих на эти пути, с руксолитинибом. Изучаются сочетания руксолитиниба с другими препаратами, способными улучшить некоторые аспекты течения болезни, на которые монотерапия руксолитинибом не влияет либо даже ухудшает их, например такие, как фиброз костного мозга и анемия. Результаты последних исследований комбинаций различных препаратов с руксолитинибом должны быть подтверждены в более крупных исследованиях и при длительном наблюдении. Ключевыми конечными точками, которые следует учитывать при оценке этих подходов, являются сокращение фиброза в костном мозге и восстановление нормального гемопоэза при одновременной оценке токсичности таких комбинаций.

Литература

1. Verstovsek S., Mesa R.A., Gotlib J., et al. A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Ruxolitinib for Myelofibrosis. *New Eng J Med.* 2012; 366: 799–807.
2. Harrison C., Kiladjian J.J., Al-Ali H.K., et al. JAK Inhibition with Ruxolitinib versus Best Available Therapy for Myelofibrosis. *New Eng J Med.* 2012; 366: 787–98.
3. Plosker G.L. Ruxolitinib: a review of its use in patients with myelofibrosis. *Drugs.* 2015; 75: 297–308. DOI: 10.1007/s40265-015-0351-8
4. Cervantes F., Vannucchi A.M., Kiladjian J.J., et al. COMFORT-II investigators. Three-year efficacy, safety, and survival findings from COMFORT-II, a phase 3 study comparing ruxolitinib with best available therapy for myelofibrosis. *Blood.* 2013; 122(25): 4047–53.
5. Harrison C.N., Vannucchi A.M., Kiladjian J.J., et al. Long-term findings from COMFORT-II, a phase 3 study of ruxolitinib vs best available therapy for myelofibrosis. *Leukemia.* 2016; 30(8): 1701–7.
6. Bose P., Verstovsek S. JAK2 inhibitors for myeloproliferative neoplasms: what is next? *Blood.* 2017; 130(2): 115–25. DOI: 10.1182/blood-2017-04-742288
7. Vannucchi A.M., Biamonte F. Epigenetics and mutations in chronic myeloproliferative neoplasms. *Haematologica.* 2011; 96: 1398–402.
8. Gowin K., Mesa R. Emerging therapies for the treatment of chronic Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasm-associated myelofibrosis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2013; 22: 1603–11.
9. Assi R., Verstovsek S., Daver N. 'JAK-ing' up the treatment of primary myelofibrosis: building better combination strategies. *Curr Opin Hematol.* 2017; 24(2): 115–24. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000320

References

1. Verstovsek S., Mesa R.A., Gotlib J., et al. A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Ruxolitinib for Myelofibrosis. *New Eng J Med.* 2012; 366: 799–807.
2. Harrison C., Kiladjian J.J., Al-Ali H.K., et al. JAK Inhibition with Ruxolitinib versus Best Available Therapy for Myelofibrosis. *New Eng J Med.* 2012; 366: 787–98.
3. Plosker G.L. Ruxolitinib: a review of its use in patients with myelofibrosis. *Drugs.* 2015; 75: 297–308. DOI: 10.1007/s40265-015-0351-8
4. Cervantes F., Vannucchi A.M., Kiladjian J.J., et al. COMFORT-II investigators. Three-year efficacy, safety, and survival findings from COMFORT-II, a phase 3 study comparing ruxolitinib with best available therapy for myelofibrosis. *Blood.* 2013; 122(25): 4047–53.
5. Harrison C.N., Vannucchi A.M., Kiladjian J.J., et al. Long-term findings from COMFORT-II, a phase 3 study of ruxolitinib vs best available therapy for myelofibrosis. *Leukemia.* 2016; 30(8): 1701–7.
6. Bose P., Verstovsek S. JAK2 inhibitors for myeloproliferative neoplasms: what is next? *Blood.* 2017; 130(2): 115–25. DOI: 10.1182/blood-2017-04-742288
7. Vannucchi A.M., Biamonte F. Epigenetics and mutations in chronic myeloproliferative neoplasms. *Haematologica.* 2011; 96: 1398–402.
8. Gowin K., Mesa R. Emerging therapies for the treatment of chronic Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasm-associated myelofibrosis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2013; 22: 1603–11.
9. Assi R., Verstovsek S., Daver N. 'JAK-ing' up the treatment of primary myelofibrosis: building better combination strategies. *Curr Opin Hematol.* 2017; 24(2): 115–24. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000320

10. DeAngelo D.J., Mesa R.A., Fiskus W., et al. Phase II trial of panobinostat, an oral pan-deacetylase inhibitor in patients with primary myelofibrosis, postessential thrombocythaemia, and postpolycythaemia vera myelofibrosis. *Br J Haematol.* 2013; 162: 326–35.
11. Baffert F., Evrot E., Ebel N., et al. Improved efficacy upon combined JAK1/2 and pan-deacetylase inhibition using ruxolitinib (INC424) and panobinostat (LBH589) in preclinical mouse models of JAK2 V617F-driven disease. *Blood.* 2011; 118: 798.
12. Harrison C.N., Kiladjian J.J., Heidel F.H., et al. Efficacy, safety, and confirmation of the recommended phase 2 starting dose of the combination of ruxolitinib (RUX) and panobinostat (PAN) in patients (pts) with myelofibrosis (MF). *Blood.* 2015; 126: 4060
13. Jovanovic J.V., Ivey A., Vannucchi A.M., et al. Establishing optimal quantitative-polymerase chain reaction assays for routine diagnosis and tracking of minimal residual disease in JAK2-V617F- associated myeloproliferative neoplasms: a joint European LeukemiaNet/MPN&MPNr-EuroNet (COST action BM0902) study. *Leukemia.* 2013; 27: 2032.
14. Daver N., Cortes J.E., Pemmaraju N., et al. Ruxolitinib (RUX) in combination with 5-azacytidine (AZA) as therapy for patients (pts) with myelofibrosis (MF). *Blood.* 2016; 128: 1127.
15. Tefferi A., Cervantes F., Mesa R., et al. Revised response criteria for myelofibrosis: International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT) and European LeukemiaNet (ELN) consensus report. *Blood.* 2013; 122(8): 1395–8. DOI: 10.1182/blood-2013-03-488098
16. Barosi G., Bordessoule D., Briere J., et al. European Myelofibrosis Network. Response criteria for myelofibrosis with myeloid metaplasia: results of an initiative of the European Myelofibrosis Network (EUMNET). *Blood.* 2005; 106(8): 2849–53.
17. Rampal R., Mascarenhas J., Kosiorek H.E., et al. Safety and efficacy of combined ruxolitinib and decitabine in patients with blast-phase MPN and Post-MPN AML: results of a phase I study (myeloproliferative disorders research consortium 109 trial). *Blood.* 2016; 128: 1124.
18. Bose P., Verstovsek S., Gasior Y., et al. Phase I/II study of ruxolitinib (RUX) with decitabine (DAC) in patients with post-myeloproliferative neoplasm acute myeloid leukemia (post-MPN AML): phase I results. Presented at the 58th Annual Meeting of the American Society of Hematology. 2016; 4262.
19. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Классические Ph-негативные миело-пролиферативные неоплазии. *Клиническая онкогематология.* 2015; 8(2): 201–32.
20. Gupta V., Harrison C.N., Hasselbalch H., et al. Phase 1b/2 study of the efficacy and safety of sonidegib (LDE225) in combination with ruxolitinib (INC424) in patients with myelofibrosis. *Blood.* 2015; 126: 825.
21. Durrant S., Nagler A., Vannucchi A.M., et al. An Open-Label, Multicenter, 2-Arm, Dose-Finding, Phase 1b Study of the Combination of Ruxolitinib and Buparlisib (BKM120) in Patients with Myelofibrosis: Results from HARMONY Study. *Blood.* 2015; 126(23): 827.
22. Moyo T.K., Sochacki A., Ayers G.D., et al. Preliminary Results from a Phase I Dose Escalation Trial of Ruxolitinib and the PI3K δ Inhibitor TGR-1202 in Myelofibrosis. *Blood.* 2016; 128: 1125.
23. Verstovsek S., Mesa R., Foltz L.M., et al. Phase 2 trial of PRM-151, an antifibrotic agent, in patients with myelofibrosis: stage 1 results. *Blood.* 2014; 124: 713.
24. Verstovsek S., Mesa R.A., Foltz L.M., et al. PRM-151 in myelofibrosis: durable efficacy and safety at 72 weeks. *Blood.* 2015; 126: 56.
25. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Миело-пролиферативные новообразования: новые данные. *Клиническая онкогематология.* 2016; 9(2): 218–28.
26. Mikkelsen S.U., Kjaer L., Skov V., et al. Safety and Efficacy of Combination Therapy of Interferon-Alpha2 + JAK1-2 Inhibitor in the Philadelphia-Negative
10. DeAngelo D.J., Mesa R.A., Fiskus W., et al. Phase II trial of panobinostat, an oral pan-deacetylase inhibitor in patients with primary myelofibrosis, postessential thrombocythaemia, and postpolycythaemia vera myelofibrosis. *Br J Haematol.* 2013; 162: 326–35.
11. Baffert F., Evrot E., Ebel N., et al. Improved efficacy upon combined JAK1/2 and pan-deacetylase inhibition using ruxolitinib (INC424) and panobinostat (LBH589) in preclinical mouse models of JAK2 V617F-driven disease. *Blood.* 2011; 118: 798.
12. Harrison C.N., Kiladjian J.J., Heidel F.H., et al. Efficacy, safety, and confirmation of the recommended phase 2 starting dose of the combination of ruxolitinib (RUX) and panobinostat (PAN) in patients (pts) with myelofibrosis (MF). *Blood.* 2015; 126: 4060
13. Jovanovic J.V., Ivey A., Vannucchi A.M., et al. Establishing optimal quantitative-polymerase chain reaction assays for routine diagnosis and tracking of minimal residual disease in JAK2-V617F- associated myeloproliferative neoplasms: a joint European LeukemiaNet/MPN&MPNr-EuroNet (COST action BM0902) study. *Leukemia.* 2013; 27: 2032.
14. Daver N., Cortes J.E., Pemmaraju N., et al. Ruxolitinib (RUX) in combination with 5-azacytidine (AZA) as therapy for patients (pts) with myelofibrosis (MF). *Blood.* 2016; 128: 1127.
15. Tefferi A., Cervantes F., Mesa R., et al. Revised response criteria for myelofibrosis: International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT) and European LeukemiaNet (ELN) consensus report. *Blood.* 2013; 122(8): 1395–8. DOI: 10.1182/blood-2013-03-488098
16. Barosi G., Bordessoule D., Briere J., et al. European Myelofibrosis Network. Response criteria for myelofibrosis with myeloid metaplasia: results of an initiative of the European Myelofibrosis Network (EUMNET). *Blood.* 2005; 106(8): 2849–53.
17. Rampal R., Mascarenhas J., Kosiorek H.E., et al. Safety and efficacy of combined ruxolitinib and decitabine in patients with blast-phase MPN and Post-MPN AML: results of a phase I study (myeloproliferative disorders research consortium 109 trial). *Blood.* 2016; 128: 1124.
18. Bose P., Verstovsek S., Gasior Y., et al. Phase I/II study of ruxolitinib (RUX) with decitabine (DAC) in patients with post-myeloproliferative neoplasm acute myeloid leukemia (post-MPN AML): phase I results. Presented at the 58th Annual Meeting of the American Society of Hematology. 2016; 4262.
19. Melikyan A.L., Subortseva I.N. Classic Ph-negative myeloproliferative neoplasia. *Klinicheskaya onkogematologiya.* 2015; 8(2): 201–32 (In Russian).
20. Gupta V., Harrison C.N., Hasselbalch H., et al. Phase 1b/2 study of the efficacy and safety of sonidegib (LDE225) in combination with ruxolitinib (INC424) in patients with myelofibrosis. *Blood.* 2015; 126: 825.
21. Durrant S., Nagler A., Vannucchi A.M., et al. An Open-Label, Multicenter, 2-Arm, Dose-Finding, Phase 1b Study of the Combination of Ruxolitinib and Buparlisib (BKM120) in Patients with Myelofibrosis: Results from HARMONY Study. *Blood.* 2015; 126(23): 827.
22. Moyo T.K., Sochacki A., Ayers G.D., et al. Preliminary Results from a Phase I Dose Escalation Trial of Ruxolitinib and the PI3K δ Inhibitor TGR-1202 in Myelofibrosis. *Blood.* 2016; 128: 1125.
23. Verstovsek S., Mesa R., Foltz L.M., et al. Phase 2 trial of PRM-151, an antifibrotic agent, in patients with myelofibrosis: stage 1 results. *Blood.* 2014; 124: 713.
24. Verstovsek S., Mesa R.A., Foltz L.M., et al. PRM-151 in myelofibrosis: durable efficacy and safety at 72 weeks. *Blood.* 2015; 126: 56.
25. Melikyan A.L., Subortseva I.N. Myeloproliferative neoplasia: new data. *Klinicheskaya onkogematologiya.* 2016; 9(2): 218–28 (In Russian).
26. Mikkelsen S.U., Kjaer L., Skov V., et al. Safety and Efficacy of Combination Therapy of Interferon-Alpha2 + JAK1-2 Inhibitor in the Philadelphia-Negative

- tive Chronic Myeloproliferative Neoplasms. Preliminary Results from the Danish Combi-Trial — an Open Label, Single Arm, Non-Randomized Multicenter Phase II Study. *Blood*. 2015; 126(23): 824.
27. Mikkelsen S.U., Kjaer L., Bjørn M.E., et al. Safety and efficacy of combination therapy of interferon- α 2 and ruxolitinib in polycythemia vera and myelofibrosis. *Cancer Med*. 2018; 7(8): 3571–81. DOI: 10.1002/cam4.1619
28. Stahl M., Zeidan A.M. Management of myelofibrosis: JAK inhibition and beyond. *Expert Rev Hematol*. 2017; 10(5): 459–77. DOI: 10.1080/17474086.2017.1317590
29. Gowin K., Kosiorek H., Dueck A., et al. Multicenter phase 2 study of combination therapy with ruxolitinib and danazol in patients with myelofibrosis. *Leuk Res*. 2017; 60: 31–5. DOI: 10.1016/j.leukres.2017.06.005
30. Stegelmann F., Bangerter M., Heidel F.H., et al. A phase-Ib/II study of ruxolitinib plus pomalidomide in myelofibrosis. *Blood*. 2015; 126(23): 826.
31. Daver N., Cortes J., Newberry K., et al. Ruxolitinib in combination with lenalidomide as therapy for patients with myelofibrosis. *Haematologica*. 2015; 100: 1058–63.
32. Rampal R., Pinzon-Ortiz M., Varshini H.A.S., et al. Synergistic Therapeutic Efficacy of Combined JAK1/2, Pan-PIM, and CDK4/6 Inhibition in Myeloproliferative Neoplasms. *Blood*. 2016; 128(22): 634.
33. Kuykendall A.T., Talati C., Al Ali N., et al. The treatment landscape of myelofibrosis before and after ruxolitinib approval. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017; 17: 45–53.
34. Caocci G., Ghiani S., Mocci C., La Nasa G. Combination Therapy with Ruxolitinib and Hydroxyurea for the Treatment of Myeloid-Predominant Leukocytosis in a Patient with Myelofibrosis. *Acta Haematol*. 2018; 139 (3): 164–5. DOI: 10.1159/000487582
35. Фоминых М.С., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. и др. Комбинированный режим терапии руксолитинибом и малыми дозами цитозара или меркаптопурина у пациентов с бластным кризом миелофиброза. *Онкогематология*. 2016; 11(2): 37–9. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-2-37-39

Информация об авторах

Грибкова Ирина Владимировна*, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела ГБУ «Научно-практический центр клинических исследований и оценки медицинских технологий» Департамента здравоохранения г. Москвы, e-mail: igribkova@yandex.ru, тел.: +7(499)144-00-30; 121096, г. Москва, ул. Минская, д. 12, корп. 2. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7757-318X>

Олейник Юлия Андреевна, врач-гематолог ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197768, г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68.

Шалаев Сергей Александрович, врач-гематолог ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

- Chronic Myeloproliferative Neoplasms. Preliminary Results from the Danish Combi-Trial — an Open Label, Single Arm, Non-Randomized Multicenter Phase II Study. *Blood*. 2015;126(23):824.
27. Mikkelsen S.U., Kjaer L., Bjørn M.E. et al. Safety and efficacy of combination therapy of interferon- α 2 and ruxolitinib in polycythemia vera and myelofibrosis. *Cancer Med*. 2018;7(8):3571–81. DOI: 10.1002/cam4.1619
28. Stahl M., Zeidan A.M. Management of myelofibrosis: JAK inhibition and beyond. *Expert Rev Hematol*. 2017;10(5):459–77. DOI: 10.1080/17474086.2017.1317590
29. Gowin K., Kosiorek H., Dueck A., et al. Multicenter phase 2 study of combination therapy with ruxolitinib and danazol in patients with myelofibrosis. *Leuk Res*. 2017; 60: 31–5. DOI: 10.1016/j.leukres.2017.06.005
30. Stegelmann F., Bangerter M., Heidel F.H., et al. A phase-Ib/II study of ruxolitinib plus pomalidomide in myelofibrosis. *Blood*. 2015; 126(23): 826.
31. Daver N., Cortes J., Newberry K., et al. Ruxolitinib in combination with lenalidomide as therapy for patients with myelofibrosis. *Haematologica*. 2015; 100: 1058–63.
32. Rampal R., Pinzon-Ortiz M., Varshini H.A.S., et al. Synergistic Therapeutic Efficacy of Combined JAK1/2, Pan-PIM, and CDK4/6 Inhibition in Myeloproliferative Neoplasms. *Blood*. 2016; 128(22): 634.
33. Kuykendall A.T., Talati C., Al Ali N., et al. The treatment landscape of myelofibrosis before and after ruxolitinib approval. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017; 17: 45–53.
34. Caocci G., Ghiani S., Mocci C., La Nasa G. Combination Therapy with Ruxolitinib and Hydroxyurea for the Treatment of Myeloid-Predominant Leukocytosis in a Patient with Myelofibrosis. *Acta Haematol*. 2018; 139(3): 164–5. DOI: 10.1159/000487582
35. Fominykh M.S., Shuvaev V.A., Martynkevich I.S., et al. Combination therapy with ruxolitinib plus low-dose cytarabine or mercaptopurine in patients with blast-phase myelofibrosis]. *Oncohematology*. 2016; 11(2): 37–9 (In Russian). DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-2-37-39

Information about the authors

Irina V. Gribkova*, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Scientific and Clinical Department, Scientific and Practical Centre for Clinical Research and Assessment of Medical Technologies of the Moscow Healthcare Department, e-mail: igribkova@yandex.ru, tel.: +7(499)144-00-30; 121096, Moscow, Minskaya str., 12, building 2. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7757-318X>

Julia A. Oleynik, Hematologist, N.N. Petrov National Medical Research Centre for Oncology, 197768, St. Petersburg, Pesochny village, Leningradskaya str., 68.

Sergey A. Shalaev, Hematologist, N.N. Petrov National Medical Research Centre for Oncology.

Давыдовская Мария Вафаевна, доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе ГБУ «Научно-практический центр клинических исследований и оценки медицинских технологий» Департамента здравоохранения г. Москвы, профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: mdavydovskaya@gmail.com, тел.: +7(499)144-00-30.

Кокушкин Константин Александрович, директор ГБУ «Научно-практический центр клинических исследований и оценки медицинских технологий» Департамента здравоохранения г. Москвы, e-mail: kokushkinka@gmail.com, тел.: +7(499)144-00-30; 121096, г. Москва, ул. Минская, д. 12, корп. 2.

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 18.12.2018

Принята к печати: 14.05.2019

Maria V. Davydovskaya, Dr. Sci. (Med.), Deputy Director for Research, Scientific and Practical Centre for Clinical Research and Assessment of Medical Technologies of the Moscow Healthcare Department; Prof., Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, N.N. Petrov National Medical Research Centre for Oncology, e-mail: mdavydovskaya@gmail.com, tel.: +7(499)144-00-30.

Konstantin A. Kokushkin, Director, Scientific and Practical Centre for Clinical Research and Assessment of Medical Technologies of the Moscow Healthcare Department. e-mail: kokushkinka@gmail.com, tel.: +7(499)144-00-30; 121096, Moscow, Minskaya str., 12, building 2.

*** Corresponding author**

Received 18 Dec 2018

Accepted 14 May 2019

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И ПРЕДИКТОРЫ НЕОНАТАЛЬНОЙ ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИИ

Хаспекова С. Г.^{1,*}, Шустова О. Н.¹, Головкина Л. Л.², Мазуров А. В.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 121552, Москва, Россия

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Неонатальная тромбоцитопения представляет собой серьезную клиническую проблему в связи с возможным развитием опасных кровотечений у плода и новорожденного.

Цель обзора — рассмотреть патогенез, методы лабораторной диагностики, маркеры и предикторы неонатальной иммунной тромбоцитопении (НАИТ).

Основные сведения. НАИТ развивается вследствие несовместимости матери и плода по аллоантигенам тромбоцитов (НРА, Human Platelet Alloantigens). Мать вырабатывает аллоантитела против аллоантигена, отсутствующего на ее тромбоцитах, но экспрессированного на тромбоцитах плода и отца. Антитела проникают в кровоток плода и вызывают разрушение тромбоцитов плода/новорожденного. Неонатальная трансиммунная тромбоцитопения (НТИТ) диагностируется у части новорожденных (20–40 %) от матерей с иммунной тромбоцитопенической пурпурой (ИТП). В этом случае на тромбоциты плода/новорожденного воздействуют аутоантитела матери с ИТП. Для диагностики неонатальной иммунной тромбоцитопении применяют следующие методы: измерение тромбоцит-ассоциированных иммуноглобулинов G (TA-IgG), определение антитромбоцитарных циркулирующих (сывороточных) антител (цАТ), идентификация антигенов-мишеней цАТ. При НАИТ у матери отсутствует тромбоцитопения и повышение TA-IgG, но определяются цАТ, реагирующие с тромбоцитами отца, несущими конфликтный НРА аллоантиген. У новорожденных наблюдается тромбоцитопения и повышение TA-IgG. Аллоиммунный конфликт подтверждают генотипированием НРА аллоантигенов матери и ребенка и/или определением специфичности цАТ, используя аллоантигены НРА-типированных доноров. В российской популяции наиболее частыми причинами НАИТ являются конфликты по НРА-1a, НРА-1b (33 и 33 % соответственно) и НРА-15a/b аллоантигенам (25 %). При НТИТ у матери с ИТП снижено содержание тромбоцитов и повышены TA-IgG, а у ребенка на фоне тромбоцитопении отмечается подъем TA-IgG. Предиктором НТИТ является наличие у беременных с ИТП антитромбоцитарных цАТ.

Ключевые слова: тромбоциты, неонатальная аллоиммунная тромбоцитопения, неонатальная трансиммунная тромбоцитопения, иммунная тромбоцитопеническая пурпура, антитромбоцитарные антитела, аллоантигены тромбоцитов человека

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа была поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 16-04-00816).

Для цитирования: Хаспекова С.Г., Шустова О.Н., Головкина Л.Л., Мазуров А.В. Диагностические маркеры и предикторы неонатальной иммунной тромбоцитопении. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2):198–210. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-198-210>

DIAGNOSTIC MARKERS AND PREDICTORS OF NEONATAL IMMUNE THROMBOCYTOPENIA

Khaspekova S. G.^{1,*}, Shustova O. N.¹, Golovkina L. L.², Mazurov A. V.¹

¹National Medical Research Center of Cardiology, Ministry of Healthcare Russian Federation, Moscow, Russian Federation, 121552, Moscow, Russian Federation

²National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Neonatal thrombocytopenia presents a serious clinical problem, due to the possible development of dangerous bleeding in the fetus and the newborn.

Aim. To elucidate pathogenesis, methods of laboratory diagnostics as well as markers and predictors of neonatal immune thrombocytopenia (NAIT).

General findings. NAIT develops due to a mismatch between the mother and the fetus in terms of platelet alloantigens (HPA, Human Platelet Alloantigens). The mother produces alloantibodies against alloantigen, absent on her platelets, but expressed on the platelets of the fetus and the father. Antibodies enter the bloodstream of the fetus, thus causing destruction of the platelets of the fetus/newborn. Neonatal transimmune thrombocytopenia (NTIT) is diagnosed in some newborns (20–40%) from mothers with immune thrombocytopenic purpura (ITP). In this case, the platelets of the fetus/newborn are affected by ITP maternal autoantibodies. The following methods are used to diagnose neonatal immune thrombocytopenia: measurement of platelet-associated immunoglobulins G (TA-IgG); determination of antiplatelet circulating (serum) antibodies (cAB); identification of cAB antigens. In the case of NAIT, the mother has neither thrombocytopenia nor an increase in TA-IgG; however, cABs are detected that react with the father's platelets carrying conflicting HPA alloantigen. In newborns, thrombocytopenia and increased TA-IgG are observed. Alloimmune conflict is confirmed by genotyping HPA of maternal and child alloantigens, and/or by determining the specificity of cABs using alloantigens of HPA-typed donors. In the Russian population, the most common causes of NAIT are conflicts with respect to HPA-1a, HPA-1b (33 % and 33%, respectively) and HPA-15a/b (25%) conflicts. In the case of NTIT, ITP mothers demonstrate reduced platelet count and increased TA-IgG, and thrombocytopenic newborns shows increased TA-IgG. The predictor of NTIT is the presence of antiplatelet cAB in pregnant women with ITP.

Keywords: platelets, neonatal alloimmune thrombocytopenia, neonatal transimmune thrombocytopenia, immune thrombocytopenic purpura, antiplatelet antibodies, human platelet alloantigens

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

Financial disclosure: this work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant No. 16-04-00816).

For citation: Khaspekova S.G., Shustova O.N., Golovkina L.L., Mazurov A. V. Diagnostic markers and predictors of neonatal immune thrombocytopenia. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(2):198–210 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-198-210>

Тромбоцитопения является одной из наиболее распространенных причин повышенной кровоточивости у взрослых и детей. В норме количество тромбоцитов в крови составляет $150\text{--}450 \times 10^9/\text{л}$. Эти значения могут несколько различаться в зависимости от пола и возраста. Формально тромбоцитопенией принято считать уменьшение количества тромбоцитов

ниже $150 \times 10^9/\text{л}$. Однако в клинической практике обследование больных начинают при количестве тромбоцитов ниже $100 \times 10^9/\text{л}$. Снижение количества тромбоцитов ниже $50 \times 10^9/\text{л}$ может вызывать развитие умеренного геморрагического синдрома. Количество тромбоцитов ниже $20 \times 10^9/\text{л}$ из-за риска опасных кровотечений является показанием для госпитализации больного [1–3].

Неонатальная тромбоцитопения представляет собой серьезную клиническую проблему в связи с возможным развитием опасных кровотечений у плода и новорожденного. Эта патология диагностируется у 1–5 % новорожденных. Причины неонатальной тромбоцитопении чаще имеют неиммунный характер: инфекции, аплазия костного мозга, лейкоз, наследственные заболевания и некоторые другие патологические состояния. Однако уменьшение количества тромбоцитов у плода и новорожденных может иметь и иммунную этиологию. Неонатальная иммунная тромбоцитопения развивается вследствие проникновения через плацентарный барьер в кровотоки плода антитромбоцитарных антител (IgG типа), вырабатываемых в организме матери. Антитела вызывают тромбоцитопению у плода, которая сохраняется и у новорожденного в течение нескольких недель после родов. Наиболее опасным осложнением являются внутричерепные кровоизлияния, которые могут привести к гибели ребенка [4, 5].

Неонатальные иммунные тромбоцитопении в зависимости от природы антитромбоцитарных антител можно разделить на две группы: аллоиммунная и трансиммунная тромбоцитопении. Неонатальная аллоиммунная тромбоцитопения (НАИТ) является следствием конфликта матери и плода по аллоантигенам (варианты одного антигена) тромбоцитов (НРА, Human Platelet Alloantigens, аллоантигены тромбоцитов человека). В организме матери вырабатываются аллоантитела против аллоантигена, отсутствующего на ее тромбоцитах, но экспрессированного на тромбоцитах плода и отца ребенка. Антитела проникают в кровотоки плода и вызывают разрушение тромбоцитов плода и новорожденного [4–7]. Неонатальная трансиммунная (аутоиммунная) тромбоцитопения (НТИТ) диагностируется у части новорожденных (20–40 %) от матерей с иммунной тромбоцитопенической пурпурой (ИТП). Это заболевание развивается в результате проникновения в кровотоки плода/новорожденного антитромбоцитарных аутоантител от матери с ИТП [4, 5].

1. Иммунологические методы диагностики неонатальной иммунной тромбоцитопении

Для диагностики неонатальной иммунной тромбоцитопении применяют те же иммунологические методы, что и для диагностики ИТП [8]: (1) измерение тромбоцит-ассоциированных иммуноглобулинов класса G (ТА-IgG), (2) определение антитромбоцитарных циркулирующих (сывороточных) антител (цАТ), (3) идентификация антигенов-мишеней цАТ. Описание этих методов представлено на рисунке 1. Тромбоцит-ассоциированные IgG измеряются на поверхности отмытых от плазмы тромбоцитов матери и ребенка по уровню связывания антител против иммуноглобулинов человека. Можно использовать антитела, меченные радиоактивным изотопом ^{125}I (метод радиоиммунного анализа, РИА) [9, 10], однако в настоящее время чаще для этих целей используют флуоресцентно меченные вторые антитела и метод проточной цитофлуориметрии [8]. Повышение ТА-IgG не считается высокоспецифичным показателем, однако отсутствие подъема ТА-IgG может служить критерием исключения иммунной природы тромбоцитопении [8]. Циркулирующие антитела в сыворотке матери определяют по их реакции с тромбоцитами отца или донора при диагностике НАИТ и НТИТ соответственно. Для этих целей может применяться метод иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием в качестве мишени адгезированных на пластике тромбоцитов [9, 10]. Связывание цАТ с тромбоцитами регистрируется с помощью вторых антител против иммуноглобулинов человека, меченных пероксидазой. Тест на определение антитромбоцитарных антител также может проводиться с помощью проточной цитофлуориметрии [8], однако с помощью ИФА можно одновременно анализировать большее количество образцов сыворотки и в разных титрах (более 90 проб в одной планшете для ИФА). Для определения антигенов цАТ обычно используют метод МАИРА (Monoclonal Antibody Immobilized Platelet Antigens, иммобилизованные с помощью моноклональных антител (моноАТ) антигены тромбоцитов) [8, 10]. Из лизата тромбоцитов с помощью предварительно сорбированных на поверхности пластика моноАТ иммобилизуют отдельные антигены, затем добавляют к ним сыворотку матери и регистрируют связывание цАТ с иммобилизованными антигенами методом ИФА. Обычно анализируют связывание цАТ с главными антигенами тромбоцитов, гликопротеинами (ГП) IIb–IIIa и ГП Ib.

2. Неонатальная аллоиммунная тромбоцитопения (НАИТ)

НАИТ является следствием выработки в организме матери аллоантител против аллоантигенов плода/новорожденного и отца ребенка, отсутствующих на ее собственных тромбоцитах. Так как такие аллоантитела не реагируют с тромбоцитами матери, тромбоцитопении у матерей не регистрируется. Частота НАИТ составляет 1 случай на 2–3 тысячи новорожденных. При умеренной тромбоцитопении это заболевание может не диагностироваться. Характерной особенностью НАИТ является то, что она может развиваться уже при первой беременности. Наиболее опасное осложнение этой патологии — внутричерепные кровоизлияния, частота которых может достигать 15–20 % [4–7].

Причиной возникновения НАИТ является несовместимость матери и ребенка по аллоантигенам системы НРА. Большая часть этих аллоантигенов локализована в мембранных белках поверхности тромбоцитов — ГП IIb–IIIa (CD61/CD41), ГП Ib (CD42b), ГП Ia (CD49b), CD109. НРА аллоантигены, как правило, имеют два

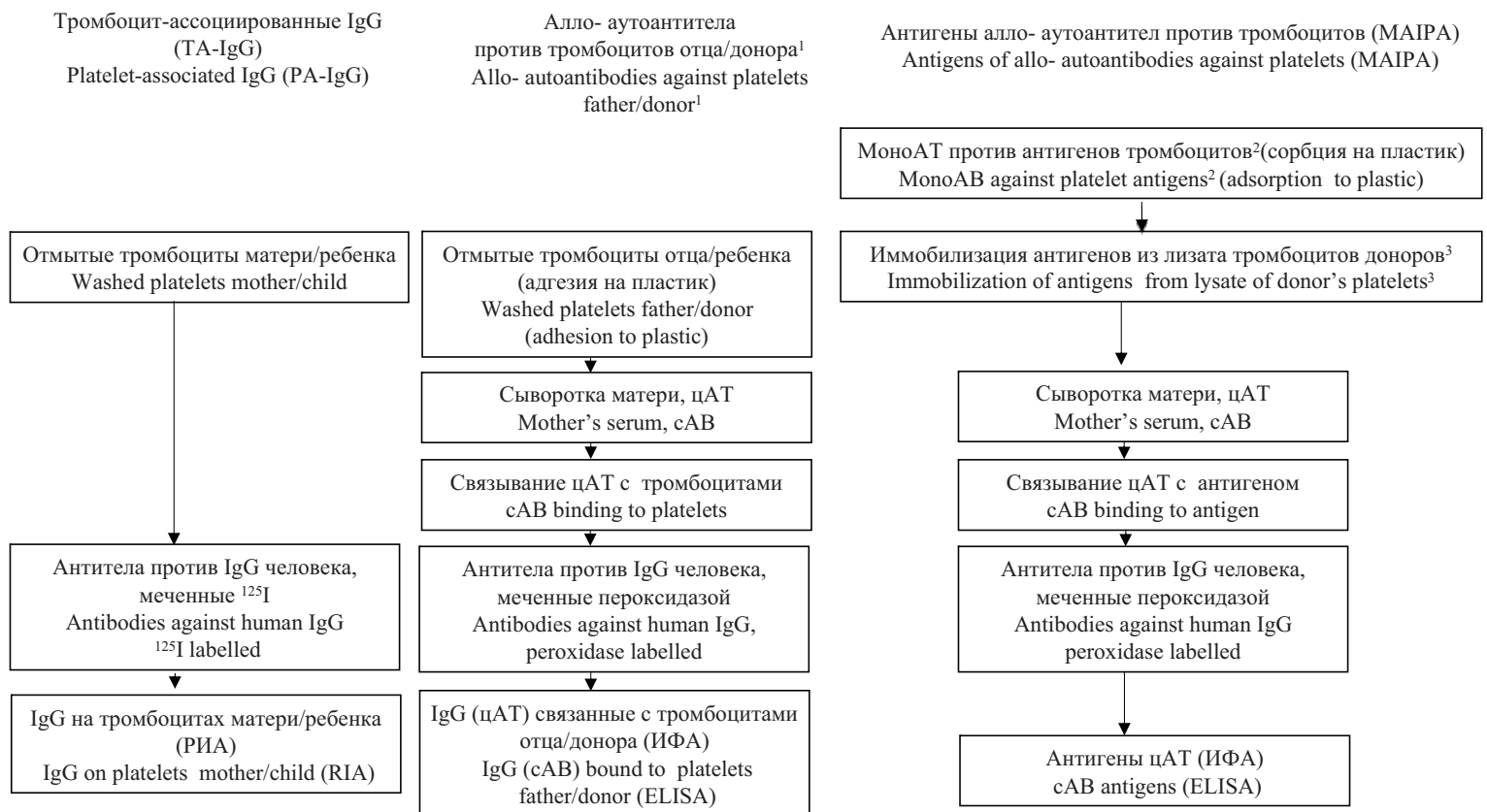


Рисунок. 1. Методы анализа алло- и аутоантител против тромбоцитов при исследовании неонатальных иммунных тромбоцитопений. Определение тромбоцит-ассоциированных IgG (TA-IgG), алло- и аутоантител против тромбоцитов отца и донора, антигенов алло- и аутоантител против тромбоцитов (MAIPA, Monoclonal Antibody Immobilized Platelet Antigens, иммобилизованные с помощью моноклональных антител антигены тромбоцитов). ¹ Циркулирующие антитела (цАТ) в сыворотке матери против тромбоцитов отца определяют при исследовании НАИТ, а против тромбоцитов донора — при исследовании НТИТ. ² Обычно используют моноклональные антитела (моноАТ) против главных тромбоцитарных антигенов ГП IIb–IIIa и ГП Ib. ³ При исследовании НАИТ используют тромбоциты доноров, типированных по основным HPA аллоантигенам, а при исследовании НТИТ — тромбоциты от любого здорового донора

Figure. 1. Analysis of antiplatelet allo- and autoantibodies in studies of neonatal immune thrombocytopenias. Detection of platelet-associated IgG (PA-IgG), allo- and autoantibodies against platelets of father and donor, antigens of allo- and autoantibodies against platelets (MAIPA, Monoclonal Antibody Immobilized Platelet Antigens). ¹ Circulating antibodies (cAB) in maternal serum against father's platelets are detected in NAIT studies, and against donor's platelets in NTIT studies. ² Monoclonal antibodies (monoAB) against major platelet antigens, glycoproteins (GP) IIb–IIIa and GP Ib are usually used. ³ Platelets from donors typed for major HPA are used in NAIT studies, and platelets from any healthy donor in NTIT studies

аллеля — «a» и «b». Полиморфизмы (аллельные варианты) HPA обычно обусловлены однонуклеотидной заменой в ДНК гена, что приводит к замене одной аминокислоты в молекуле соответствующего белка/антигена. При развитии НАИТ организм матери вырабатывает антитела против HPA варианта, отсутствующего на ее тромбоцитах, но представленного на тромбоцитах плода и отца (от которого этот вариант наследуется ребенком). [4–7, 11, 12]. В таблице 1 приведены основные варианты HPA аллоантигенов и частота их встречаемости в российской популяции [13]. Известно, что для европейских популяций характерны приблизительно те же частоты полиморфизмов HPA [8, 11].

В семьях, имеющих детей с НАИТ, зарегистрированы полиморфизмы более 30 HPA аллоантигенов [11, 12]. Однако наиболее частой причиной НАИТ (до 70–80 % случаев) в европейских популяциях является несовместимость по аллоантигену HPA-1 (или PL^A согласно тривиальной номенклатуре). Этот антиген представлен на мембране тромбоцитов двумя аллель-

ными формами — HPA-1a и HPA-1b, отличающимися друг от друга одной аминокислотой. В ГП IIIa происходит замена лейцина (HPA-1a) на пролин (HPA-1b) в 33 положении аминокислотной последовательности, которая является результатом однонуклеотидной замены 1565T/C в гене этого белка. В подавляющем большинстве случаев происходит иммунизация матери, гомозиготной по более редкому аллоантигену HPA1-b (частота встречаемости гомозиготного генотипа HPA-1b/b — 1–2 %), аллоантигеном HPA-1a, присутствующим на тромбоцитах плода. HPA-5 конфликты являются второй по частоте причиной НАИТ в европейских популяциях. Однако они встречаются существенно реже, чем HPA-1 конфликты, — приблизительно в 10–15 % НАИТ. Известно также, что, в отличие от европейских популяций, в Азии НАИТ главным образом развивается вследствие несовместимости по HPA-4 и HPA-5 аллоантигенам [4–7, 11, 12].

Основой диагностики НАИТ является выявление аллоантител в крови матери и определение молеку-

Таблица 1. Характеристика основных HPA (Human Platelet Alloantigen) аллоантигенов и частота их встречаемости в российской популяции¹
Table 1. Characteristics of the main HPA (Human Platelet Alloantigen) alloantigens and their frequencies in the Russian population¹

HPA Аллоантиген HPA Alloantigen	Белок (антиген) Protein (antigen)	Количество копий антигена на 1 тромбоцит ² Antigen copy number per 1 platelet ²	Различия аллоантигенов (аминокислоты) Differences in alloantigens (amino acids)	Частота в российской популяции, % Frequency in the Russian population, %
HPA-1a HPA-1b	ГП IIIa (CD61)	40 000–50 000	Leu33 Pro33	95 27
HPA-2a HPA-2b	ГП Ib (CD42b)	20 000–25 000	Thr145 Met145	98 24
HPA-3a HPA-3b	ГП IIb (CD41)	40 000–50 000	Ile843 Ser843	80 71
HPA-4a HPA-4b	ГП IIIa (CD61)	40 000–50 000	Arg143 Gln143	100 0
HPA-5a HPA-5b	ГП Ia (CD49b)	2000–4000	Glu505 Lys505	99 18
HPA-15a HPA-15b	CD109	1000–2000	Thr140 Ile140	75 75

Примечание. ¹ Обследованные лица идентифицировали себя как русские. ² По количеству связывающихся с тромбоцитами специфических моноАТ. Данные по частотам HPA аллоантигенов из работы Л.Л. Головкиной и соавт. [13].
 Note: ¹Tested subjects identified themselves as russians. ²According to the number of specifica monoAB bound to platelets. Data on HPA frequency from Golovkina et al. [13].

лярной природы аллоиммунного конфликта. Клинически необходимо исключить возможные неиммунные причины тромбоцитопении (инфекция, аплазия костного мозга, лейкоз и др.). Характерным признаком НАИТ является отсутствие тромбоцитопении у матери при наличии тромбоцитопении у ребенка. Однако у беременных женщин может наблюдаться некоторое уменьшение количества тромбоцитов, особенно на поздних сроках беременности [14]. В связи с этим для исключения диагноза ИТП у матери и, соответственно НТИТ у новорожденного, нужно продемонстрировать у нее отсутствие подъема ТА-IgG. Несмотря на нормальный уровень ТА-IgG у матери, у новорожденного с НАИТ, вследствие сорбции материнских аллоантител, ТА-IgG должны быть повышены. У ребенка определение этого показателя необходимо проводить до начала возможной терапии внутривенными иммуноглобулинами, т. к. введение в кровотоки больших количеств иммуноглобулинов может влиять на определение ТА-IgG. Для установления диагноза НАИТ необходимо продемонстрировать наличие у матери цАТ, реагирующих с тромбоцитами отца, несущих конфликтный HPA аллоантиген, присутствующий и на тромбоцитах ребенка. Тромбоциты новорожденного в этом случае не используются, т.к. крайне сложно получить у новорожденного необходимое количество крови, и на поверхности тромбоцитов новорожденного уже присутствуют эндогенные аллоантитела, которые могут препятствовать связыванию добавляемых к ним аллоантител из сыворотки матери. На рисунке 2А представлены кривые связывания цАТ из сыворотки матери ребенка с НАИТ с тромбоцитами отца [9]. В данном случае концентрация цАТ в тестируемой материнской сыворотке была очень вы-

сока — положительная реакция с тромбоцитами отца регистрировалась даже при титре 64. Проведенный генетический анализ показал, что мать является гомозиготной носительницей редкого HPA-1b аллеля, а отец и ребенок — носителями HPA-1a аллеля. Таким образом, иммунный конфликт был обусловлен несовместимостью именно по HPA-1a аллоантигену, против которого и вырабатывались материнские аллоантитела. После выявления цАТ в сыворотке матери, реагирующих с тромбоцитами отца, для окончательной верификации диагноза НАИТ определяют молекулярную природу иммунного конфликта с помощью генетических или антиген-специфических иммунологических методов. Генотипирование HPA матери, ребенка и отца (генотипирование отца не является обязательным для установления природы несовместимости) обычно проводят с помощью ПЦР, используя соответствующие коммерческие наборы. С.Г. Хаспекковой и соавт. [9] был проведен анализ аллельных полиморфизмов HPA-1, -2, -3, -4, -5 и -15 в 28 семьях, в которых у новорожденных была диагностирована НАИТ. Родители в этих семьях относили себя к русским (большинство) или к другим европейским популяциям Российской Федерации. Во всех случаях отмечалось снижение тромбоцитов у новорожденного менее 100×10⁹/л и повышенный уровень ТА-IgG. У матерей эти показатели соответствовали норме. Однако у всех матерей было зарегистрировано наличие в сыворотке цАТ, реагирующих с тромбоцитами отца. На основании этих данных была диагностирована НАИТ. В результате генотипирования несовместимость по HPA была идентифицирована в 24 из 28 семей. В остальных четырех семьях генотипирование не выявило конфликтных

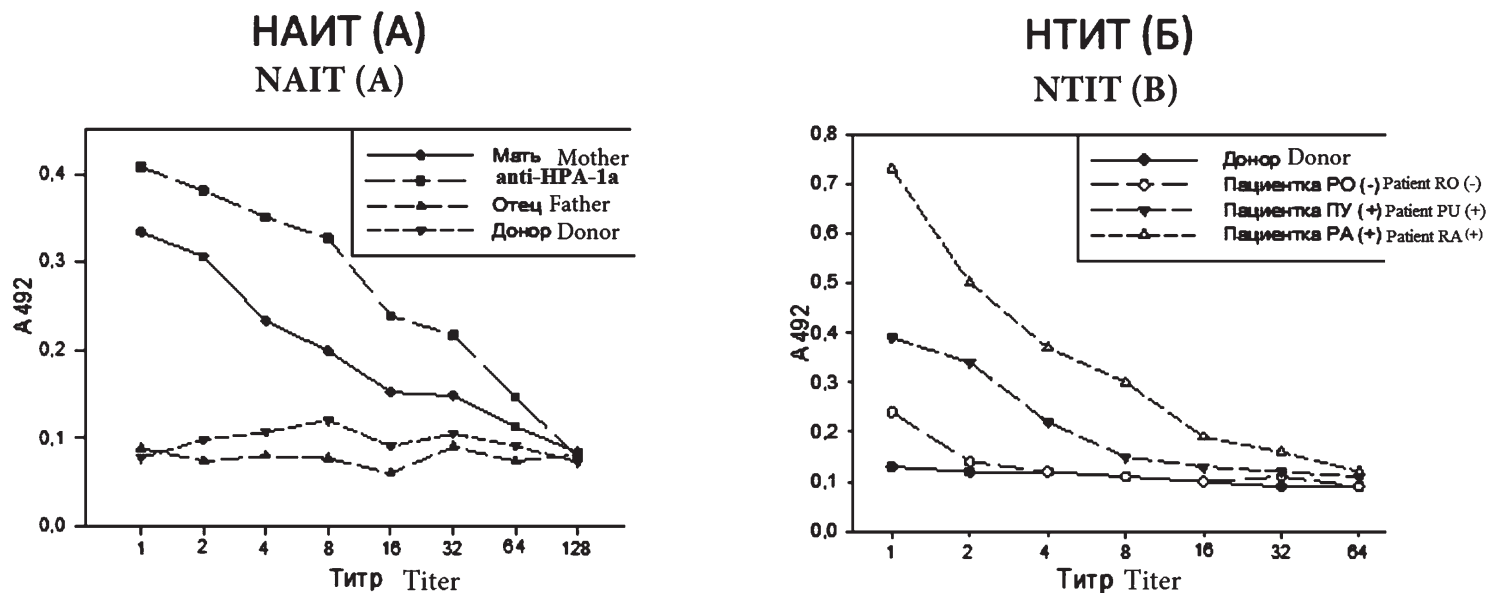


Рисунок 2. Определение антитромбоцитарных циркулирующих антител (цАТ) у матерей, родивших детей с неонатальной иммунной тромбоцитопенией. ИФА с использованием в качестве мишени для цАТ адгезированных на пластике тромбоцитов.

НАИТ (А). Связывание цАТ матери ребенка с НАИТ с тромбоцитами отца. Мать с HPA-1b/1b, отец с HPA-1a/1a и ребенок с HPA-1a/1b генотипами. К тромбоцитам отца добавляли в различных титрах (разведениях) сыворотку матери (Мать, ●), ранее охарактеризованную анти-HPA-1a сыворотку (Анти-HPA-1a, ■) (положительный контроль), сыворотку отца (Отец, ▲) и сыворотку донора (Донор, ▼) (отрицательные контроли). Сыворотка матери содержит в высокой концентрации (титр 64) аллоантитела против HPA-1a аллоантигена, экспрессированного на тестируемых тромбоцитах отца и, соответственно, ребенка. Данные из работы Хаспековой и соавт. [9].

NTIT (Б). Связывание цАТ беременных с ИТП (пациентки) с тромбоцитами донора. К тромбоцитам донора добавляли в различных титрах (разведениях) сыворотку донора (Донор, ●) (отрицательный контроль), сыворотку матери с ИТП, родившей ребенка без NTIT (Пациентка РО (-), ○, титр цАТ < 2) и сыворотки матерей с ИТП, родивших детей с NTIT (Пациентка ПУ (+), ▼, титр цАТ = 4) (Пациентка РА (+), Δ, титр цАТ = 16). Положительными считали ответы при не менее чем двукратном превышении значений A492 в неразведенных (титр 1) сыворотках матерей и при первом двукратном разведении (титр 2) в сравнении с контрольной сывороткой донора. Данные из работы Khaspekova и соавт [10]

Figure 2. Detection of antiplatelet circulating antibodies (cAB) in mothers giving birth to babies with neonatal immune thrombocytopenia. ELISA with platelets adherent to plastic as a target for cAB.

NAIT (A). Binding of cAB from mother of NAIT baby with father's platelets. Mother with HPA-1b/1b, father with HPA-1a/1a and baby with HPA-1a/1b genotypes. Sera at different titers (dilutions) were added to father's platelets. Mother's serum (Mother, ●), previously characterized anti-HPA-1 serum (Anti-HPA-1a, ■) (positive control), father's serum (Father, ▲) and donor's serum (Donor, ▼) (negative control). Maternal serum contain at high concentration (titer 64) alloantibodies against HPA-1a expressed on tested father's platelets and on baby's platelets respectively. Data from Khaspekova et al. [9].

NTIT (B). Binding of cAB from pregnant women with ITP (patients) with donor's platelets. Sera at different titers (dilutions) were added to donor's platelets. Donor's serum (Donor, ●) (negative control), serum of mother with ITP giving birth to baby without NTIT (Patient RO (-), ○, cAB titer < 2) and sera of mothers with ITP giving birth to babies with NTIT (Patient PU (+), ▼, cAB titer = 4), (Patient RA (+), Δ, cAB titer = 16). Responses were considered as positive at not less than two times increase of A492 value in not diluted (titer 1) maternal serum and at first double dilution (titer 2) in comparison with control donor's serum. Data from Khaspekova et al. [10]

аллоантигенов, что, по-видимому, указывает на наличие несовместимости по другим, не тестируемым в работе аллоантигенам. Результаты генотипирования представлены в таблице 2. В 16 из 24 семей (67 %) была выявлена несовместимость по HPA-1, при этом количество конфликтов по HPA-1a и HPA-1b было одинаковым, каждый из них был идентифицирован в 8 семьях (33,5 %). В некоторых случаях конфликты по HPA-1 сочетались с другими возможными несовместимостями. В одной семье был идентифицирован изолированный конфликт по HPA-3 и в одной по HPA-5 аллоантигенам. В 6 семьях (25 %) были выявлены конфликты по HPA-15 аллоантигену. Таким образом, в отличие от европейских популяций, в которых наиболее часто встречаются несовместимости по HPA-1a (70–80 %), а второе место занимают несовместимости по HPA-5 (15–20 %) (см. выше), в обследованных российских семьях было зарегистрировано одинаково высокое количество HPA-1a и HPA-1b несовместимостей (по

33,5 %), а вторыми по частоте были несовместимости по HPA-15 (25 %).

Распределение основных HPA полиморфизмов в российской популяции (таблица 1) [13] не отличается от других европейских популяций [8, 11], и поэтому единственное возможное объяснение столь большого вклада HPA-1b и HPA-15 конфликтов в развитие НАИТ в России — это более высокая вероятность аллоиммунизации матерей по этим аллоантигенам. Это явление, возможно, обусловлено особенностями распределения в российской популяции HLA антигенов, участвующих в презентации HPA-1b и HPA-15. В частности, в соответствии с этим предположением у доноров русского происхождения зарегистрирована высокая частота HLA гаплотипов *HLA-DRB1*07:01, -DQB1*02* [15], наличие которых ассоциировано с продукцией анти-HPA-1b аллоантител у HPA-1a/a пациентов, которым проводились множественные переливания тромбоцитов [16].

Таблица 2. Конфликты по HPA аллоантигенам при НАИТ в российской популяции

Table 2. HPA conflicts in NAIT in Russian population

Конфликтный аллоантиген <i>Conflict alloantigen</i>	¹ n (%)	Титры аллоантител в сыворотке матери (против тромбоцитов отца) <i>Maternal serum titers of alloantibodies (against father's platelets)</i>
HPA-1a	8 (33,5) ²	1/16–1/64
HPA-1a + HPA-2b	1	1/32
HPA-1a + HPA-3b	1	1/32
HPA-1b	8 (33,5) ²	1/16–1/64
HPA1b + HPA-5a	2	1/16; 1/64
HPA-3b	1 (4) ³	1/16
HPA-5b	1 (4) ³	1/16
HPA-15a	3 (12,5) ³	1/4; 1/4; 1/8
HPA-15b	3 (12,5) ³	1/4; 1/8; 1/8

Примечание. ¹ Из 24 зарегистрированных HPA конфликтов после генотипирования HPA-1, -2, -3, 4, -5, -15 в 28 семьях, имеющих детей с НАИТ. ² В том числе комбинированные несовместимости HPA-1a + HPA-2b, HPA-3b и HPA-1b + HPA-5a. ³ Изолированные несовместимости по одному аллоантигену. Данные из работы С.Г. Хаспековой и соавт. [9].

Note. ¹ Out of 24 registered HPA conflicts after genotyping for HPA-1, -2, -3, 4, -5, -15 in 28 families, having babies with NAIT. ² Including combined incompatibilities HPA-1a + HPA-2b, HPA-3b and HPA-1b + HPA-5a. ³ Isolated incompatibilities for one alloantigen. Data from Khaspekova et al. [9].

Титры цАТ несколько различаются при конфликтах по разным HPA аллоантигенам [9]. Наиболее высокие титры были зарегистрированы при HPA-1, а наиболее низкие — при HPA-15 конфликтах (таблица 2). По-видимому, низкие титры анти-HPA-15 аллоантител объясняются существенно более низким содержанием несущего их антигена CD109 на поверхности тромбоцитов (1000–2000 копий на 1 тромбоцит), по сравнению с носителем HPA-1 антигена, ГП IIb-IIIa (40 000–50 000 копий на 1 тромбоцит) (таблица 1) [11].

Результаты генотипического анализа молекулярной природы конфликтов при НАИТ могут быть подтверждены с помощью иммунологического антиген специфического теста МАИРА [8]. На рисунке 3А представлены примеры проверки связывания аллоантител из сыворотки двух матерей, предположительно (по результатам HPA генотипирования) направленных против HPA-1a и -1b (генотипы HPA-1b/b и -1a/a соответственно) с ГП IIb-IIIa, иммобилизованного из лизата тромбоцитов доноров с генотипами HPA-1a/a и -1b/b. (Использованный вариант теста МАИРА был описан ранее [10].) Положительные реакции регистрируются только при добавлении сыворотки пациентки с генотипом HPA-1a/a к ГП IIb-IIIa донора с генотипом HPA-1b/b и пациентки с генотипом HPA-1b/b к ГП IIb-IIIa донора с генотипом HPA-1a/a, что подтверждает наличие у этих матерей аллоантител со специфичностью, соответствующей результатам генетипирования.

Таким образом, представленные исследования [9], показали, что в российской популяции при обследовании семей, имеющих детей с НАИТ, следует обращать особое внимание на несовместимости по HPA-1a, HPA-1b и HPA-15 аллоантигенам, являющимися наиболее частыми причинами развития этой патологии.

3. Неонатальная трансиммунная тромбоцитопения (НТИТ)

Неонатальная трансиммунная (аутоиммунная) тромбоцитопения (НТИТ) диагностируется у части новорожденных от матерей с ИТП. ИТП является классической аутоиммунной патологией, при которой снижение количества тромбоцитов обусловлено выработкой аутоантител, реагирующих с тромбоцитарными антигенами. Чаще всего мишенью аутоантител являются мажорные антигены тромбоцитов — ГП IIb-IIIa и ГП Ib. Распространенность ИТП составляет 2–4 случая на 100 000 населения в год. При этом женщины детородного возраста заболевают приблизительно в два раза чаще мужчин. [2, 3]. У беременных ИТП регистрируется с частотой приблизительно 1 случай на 1000 беременностей [5, 14]. Новорожденные от матерей с ИТП имеют риск развития тромбоцитопении (НТИТ) в связи с возможным трансплацентарным переходом материнских аутоантител в кровотоки плода. Частота развития НТИТ со снижением количества тромбоцитов у новорожденного ниже 100–150×10⁹/л составляет, по разным данным, от 20 до 40 %, а в более тяжелой форме с количеством тромбоцитов ниже 50×10⁹/л — около 10 %. Внутричерепные кровоизлияния, как и в случае НАИТ, являются наиболее грозными осложнениями НТИТ, однако встречаются существенно реже — у 1–2 % новорожденных [4, 5, 14, 17–19].

Сама по себе диагностика НТИТ после родов не вызывает существенных проблем. Исключение неиммунных причин тромбоцитопении, уменьшение количества тромбоцитов и повышение уровня ТА-IgG у матери и новорожденного позволяют диагностировать ИТП у матери и НТИТ у ребенка. При этом заболевании, в отличие от НАИТ, у матери наблюдается и тромбоцитопения, и повышение ТА-IgG. Так же как и при диагностике НАИТ (см. выше), необходи-

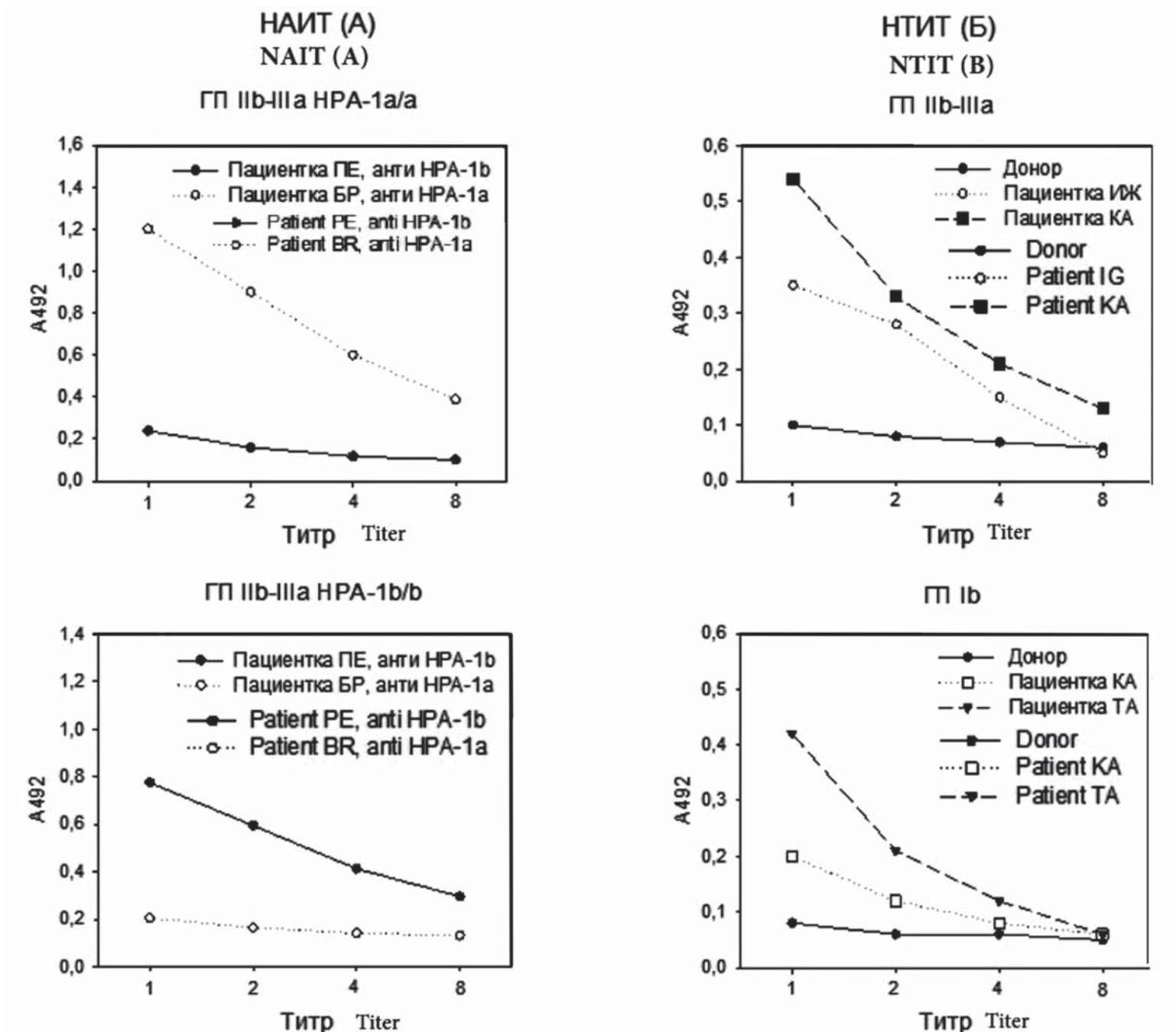


Рисунок 3. Определение антигенов антитромбоцитарных цАТ у матерей, родивших детей с НАИТ (А), и беременных с ИТП, родивших детей с НТИТ (Б). МАИРА. НАИТ (А). ГП IIb-IIIa иммобилизовали с помощью моноАТ CRC64 из лизата тромбоцитов HPA-1 типированных доноров — с генотипом HPA-1a/a (верхний рисунок) и с генотипом HPA-1b/b (нижний рисунок). К ГП IIb-IIIa добавляли сыворотки в различных титрах (разведениях) матерей (пациенток), родивших детей с НАИТ и содержащих цАТ против тромбоцитов отцов. Пациентка ПЕ (●) имела генотип HPA-1a/a и предположительно (по результатам генотипирования) аллоантитела против HPA-1b аллоантигена, а пациентка БР (○) имела генотип HPA-1b/b и предположительно (по результатам генотипирования) аллоантитела против HPA-1a аллоантигена. Результаты антигенного анализа подтверждают результаты генотипирования. Циркулирующие антитела пациентки ПЕ (генотип HPA-1a/a) реагировали только с ГП IIb-IIIa донора с генотипом HPA-1b/b, а пациентки БР (генотип HPA-1b/b) только с ГП IIb-IIIa донора с генотипом HPA-1a/a. Собственные, ранее не опубликованные данные. НТИТ (Б). ГП IIb-IIIa (верхний рисунок) и ГП IIb (нижний рисунок) иммобилизовали из лизата тромбоцитов донора с помощью моноАТ CRC64 и VM16d соответственно. К иммобилизованным антигенам добавляли сыворотку донора (Донор, ●) (отрицательный контроль) и сыворотки беременных женщин с ИТП (пациенток), содержащие антитромбоцитарные цАТ: пациентки ИЖ (○), КА (■ и □) и ТА (▼) в различных титрах (разведениях). У пациентки КА зарегистрировано наличие цАТ реагирующих, как с ГП IIb-IIIa, так и ГП IIb. Данные из работы Khaspekova и соавт [10]

Figure 3. Detection of antigens of antiplatelet cAB in mothers giving birth to babies with NAIT (A) and in pregnant women with ITP giving birth to babies with NTIT (B). MAIPA. NAIT (A). GP IIb-IIIa was immobilized using monoAB CRC64 from the lysate of platelets of HPA-1 typed donors — with HPA-1a/a (top panel) and HPA-1b/b (low panel) genotypes. Sera of mothers (patients) giving birth to babies with NAIT and containing cAB against father's platelets were added to GP IIb-IIIa at different titers (dilutions). Patient PE (●) had HPA-1a/a genotype and presumably (according to genotyping results) alloantibodies against HPA-1b, and patient BR (○) had HPA-1b/b genotype and presumably (according to genotyping results) alloantibodies against HPA-1a. Antigen analysis confirmed genotyping results. Circulating antibodies of patient PE (genotype HPA-1a/a) react only with GP IIb-IIIa of donor with HPA-1b/b genotype, and of patient BR (genotype HPA-1b/b) only with GP IIb-IIIa of donor with HPA-1a/a genotype. Our own earlier unpublished data. NTIT (B). GP IIb-IIIa (top panel) and GP IIb (low panel) were immobilized from the lysate of donor's platelets using monoAB CRC64 and VM16d respectively. Sera at different titers (dilutions) were added to immobilized antigens. Donor's serum (Donor, ●) (negative control) and sera of pregnant women with ITP (patients), containing antiplatelet cAB: patients IG (○), KA (■ and □) and TA (▼). Presence of cAB reacting with both GP IIb-IIIa and GP IIb was detected in patient KA. Data from Khaspekova et al [10]

мо проводить определение ТА-IgG у новорожденного до начала возможной терапии внутривенными иммуноглобулинами.

Гораздо более сложным вопросом является не диагностика НТИТ, а возможность предсказания развития тромбоцитопении у ребенка еще до родов, т.е. на основании обследования беременных с ИТП. Как уже указывалось выше [4, 5, 14, 17–19], риск развития НТИТ у новорожденных в этой ситуации составляет 20–40 %. В качестве возможных предикторов НТИТ у беременных с ИТП рассматривали: количество тромбоцитов (глубина тромбоцитопении), применение кортикостероидов, время начала ИТП (до или во время беременности), уровень антитромбоцитарных антител (как связанных с тромбоцитами, т.е. ТА-IgG, так и цАТ) и другие показатели. Однако ни один из них не был идентифицирован как надежный предиктор, по крайней мере, в нескольких независимых исследованиях. В большинстве публикаций содержание тромбоцитов у матери с ИТП [17–22] и применение кортикостероидов [17, 19–22] никак не коррелировали с развитием НТИТ. В трех исследованиях начало ИТП до беременности было ассоциировано с более высоким риском тромбоцитопении у новорожденных [17, 21, 22], однако эти наблюдения не были подтверждены другими авторами [19, 20]. Умеренная отрицательная корреляция между уровнем ТА-IgG и количеством тромбоцитов у новорожденных была отмечена в одной работе [23], но еще в двух работах такой корреляции выявлено не было [17, 21]. Определение антитромбоцитарных цАТ у беременных с ИТП проводили в трех исследованиях [17, 21, 23]. В двух из них, с включением относительно небольшого количества больных (около 60 матерей с ИТП), авторы отмечали: умеренную обратную корреляцию между титром цАТ и количеством тромбоцитов у новорожденных [23] и несколько более высокий процент детекции цАТ в группе матерей, родивших детей с тромбоцитопенией, по сравнению с группой матерей, родивших детей без тромбоцитопении [21]. В крупном исследовании, проведенном Р. Samuels и соавт. [17], в которое было включено 162 беременные с ИТП, было убедительно показано, что отсутствие цАТ ассоциировано с минимальным риском развития НТИТ. Однако наличие цАТ имело низкое прогностическое значение, т.к. у многих женщин с цАТ родились дети с нормальным содержанием тромбоцитов. На основании этих данных авторы сделали вывод о высокой чувствительности (низкий уровень ложноотрицательных ответов), но низкой специфичности (высокий уровень ложноположительных ответов) используемого ими теста.

С целью поиска надежных предикторов НТИТ в работе S.G. Khaspekova и соавт. [10] было проведено обследование 100 беременных с ИТП и их новорожденных. Иммуноную тромбоцитопеническую пурпуру диагностировали в соответствии со следующими

критериями: количество тромбоцитов $<100 \times 10^9/\text{л}$, отсутствие не иммунных причин тромбоцитопении и повышение уровня ТА-IgG $>200\%$ от контроля у здоровых доноров. Содержание тромбоцитов $<100 \times 10^9/\text{л}$ у новорожденных являлось диагностическим показателем НТИТ. Обследование беременных женщин проводилось за 1–2 месяца до родов. После родов матерей разделили на две группы — 37 матерей, у которых родились дети с НТИТ, и 63 матери, у которых родились дети с нормальным количеством тромбоцитов. Как видно из таблицы 3, не было обнаружено никаких различий между этими группами по таким показателям, как возраст, количество тромбоцитов, частота применения кортикостероидов и уровень ТА-IgG, что в основном соответствует и данным ранее проведенных исследований (см. выше). Впервые в этих группах сравнили такой показатель, как средний объем тромбоцитов (характеристика размера), который также не показал взаимосвязи с развитием НТИТ.

Единственный показатель, по которому были обнаружены высоко достоверные различия между группами — это наличие цАТ в сыворотке беременных. Такие антитела были выявлены у 33 из 37 матерей, у которых родились дети с НТИТ, и лишь у 2 из 63 матерей, у которых родились дети без НТИТ. Таким образом, чувствительность этого теста составила 89 %, а специфичность — 97 %. Примеры определения цАТ у беременных с ИТП представлены на рис. 2Б. Как видно из этого рисунка, определялось не только наличие цАТ, но и их титр. Оказалось, что существует сильная и высоко достоверная обратная корреляция между титром цАТ и количеством тромбоцитов у новорожденных с НТИТ (коэффициент корреляции $-0,749$, $p < 0,001$, $n = 37$). Эти данные указывают на то, что с помощью этого теста можно предсказывать не только наличие тромбоцитопении у новорожденного, но и, возможно, степень снижения количества тромбоцитов. В отличие от работы Samuels и соавт. [17], тест на цАТ, применяемый в работе S.G. Khaspekova и соавт. [10], отличала не только высокая чувствительность с точки зрения предсказания НТИТ, но и высокая специфичность, т.е. низкий уровень ложноположительных ответов. Скорее всего, это связано с различием применяемых для определения цАТ методов — метод ИФА с использованием адгезированных на поверхности тромбоцитов в исследовании S.G. Khaspekova и соавт. [10] и метод РИА с использованием тромбоцитов в суспензии в исследовании Р. Samuels и соавт. [17]. Также, по-видимому, важным является то, что S.G. Khaspekova и соавт. [10] титровали сыворотки и считали положительными ответы только при превышении (не менее двукратно) не специфического уровня связывания у доноров (отрицательный контроль) не только в неразведенной сыворотке (титр 1), но и при ее двукратном разведении (титр 2) (см. рис. 2Б).

Таблица 3. Характеристики беременных с ИТП, у которых родились дети с и без НТИТ (НТИТ+ и НТИТ- группы)
Table 3. Characteristics of pregnant women with ITP giving birth to babies with and without NTIT (NTIT+ and NTIT- groups)

Показатель Indicator	НТИТ+ группа ¹ NTIT+ group ¹ (n = 37)	НТИТ- группа ² NTIT- group ² (n = 63)	p
Средний возраст, лет Average age, years	28 (23–31)	30 (26–33)	>0,05
ИТП до беременности, % (n) ITP before pregnancy, % (n)	29 (11)	35 % (22)	>0,05
Терапия кортикостероидами, % (n) Corticosteroid therapy, % (n)	16 (6)	19 % (12)	>0,05
Количество тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$ Platelet count, $\times 10^9/\text{L}$	58 (45–68)	59 (43–79)	>0,05
Средний объем тромбоцитов, фл The average volume of platelets, fL	9,7 (9,2–10,3)	9,9 (9,1–11,0)	>0,05
ТА-IgG, % от контроля ³ TA-IgG, % of control ³	360 (310–420)	320 (270–400)	>0,05
Антитромбоцитарные цАТ, % (n) Antiplatelet antibodies, % (n)	89 (33)	3 (2)	<0,001

Примечание. Количественные показатели представлены в виде медианы и межквартильного интервала; качественные показатели — в виде % от всех больных в группе и количество больных (в скобках). p — достоверность различий между группами (тест Манна — Уитни и тест хи-квадрат для количественных и качественных показателей соответственно). ¹ Количество тромбоцитов у новорожденных $<100 \times 10^9/\text{л}$. ² Количество тромбоцитов у новорожденных $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$. ³ ТА-IgG >200 % от уровня здоровых доноров у всех беременных с ИТП. Данные из работы S.G. Khaspekova и соавт. [10].

Note. Quantitative parameters are presented as median and interquartile range; for qualitative parameters — % of all patients in the group and number of patients (in brackets). p — Significance of differences between groups (Mann — Whitney test and Chi-square test for quantitative and qualitative parameters respectively); ns — differences are not significant (p > 0.05). ¹Number of platelets in newborns $< 100 \times 10^9/\text{L}$. ²Number of platelets in newborns $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$. ³PA-IgG > 200 % of the level in healthy donors in all pregnant women with ITP. Data from Khaspekova et al. [10].

В работе S.G. Khaspekova и соавт. [10] также определяли антигены цАТ у беременных с ИТП, используя метод МАИРА. В качестве мишеней рассматривали главные антигены тромбоцитов — ГП IIb–IIIa и ГП Ib. Примеры анализа цАТ с помощью метода МАИРА представлены на рисунке 3Б. Таким образом были проверены 19 сывороток матерей ИТП, у которых родились дети с НТИТ. Несмотря на то что во всех этих сыворотках были идентифицированы антитромбоцитарные цАТ в тесте ИФА с адгезированными тромбоцитами, положительные реакции по отношению к ГП IIb–IIIa или ГП Ib наблюдались только в 10 из 19 сывороток. Антигенная специфичность оставшихся сывороток осталась неясной. По-видимому, они реагируют с другими, минорными антигенами тромбоцитов, не включенными в анализ. Эти данные также указывают на то, что тест на определение цАТ с использованием в качестве мишени целых тромбоцитов обладает более высокой чувствительностью, чем тест МАИРА с использованием двух главных антигенов тромбоцитов, ГП IIb–IIIa и ГП Ib.

4. Алгоритм диагностики неонатальной иммунной тромбоцитопении

На основании представленных в обзоре результатов предлагается алгоритм лабораторных диагностических исследований неонатальной иммунной тромбоцитопении (рис. 4). После определения количества тромбоцитов у матери и ребенка и исключения

возможных не иммунных причин тромбоцитопении предлагается провести определение у них уровня ТА-IgG (у ребенка строго до начала лечения внутривенными иммуноглобулинами, т.е. по возможности сразу после родов). Если у ребенка отсутствует повышение ТА-IgG, диагноз иммунной тромбоцитопении можно отклонить. Если у матери не регистрируется снижение количества тромбоцитов и подъем ТА-IgG, а у ребенка наблюдается тромбоцитопения и повышение ТА-IgG, то предполагается диагноз НАИТ и для его подтверждения необходимо проверить реактивность цАТ матери по отношению к тромбоцитам отца. В случае положительной реакции в этом тесте диагноз НАИТ можно считать установленным. Однако для выяснения молекулярной природы аллоиммунного конфликта целесообразно проведение генотипирования НРА аллоантигенов матери, ребенка и отца (по возможности) и/или определение аллоантигенов цАТ с помощью метода МАИРА с использованием тромбоцитов (источник антигенов) ранее НРА-типированных доноров. При наличии у матери ИТП (снижение тромбоцитов и подъем ТА-IgG) и тромбоцитопении, ассоциированной с повышением ТА-IgG, у новорожденного выставляется диагноз НТИТ. У беременных с ИТП для оценки риска развития НТИТ у новорожденных рекомендуется определить в сыворотке цАТ, реагирующие с тромбоцитами донора. Использование в этом случае антиген-специфического теста МАИРА мало информативно вследствие его низкой специфичности.

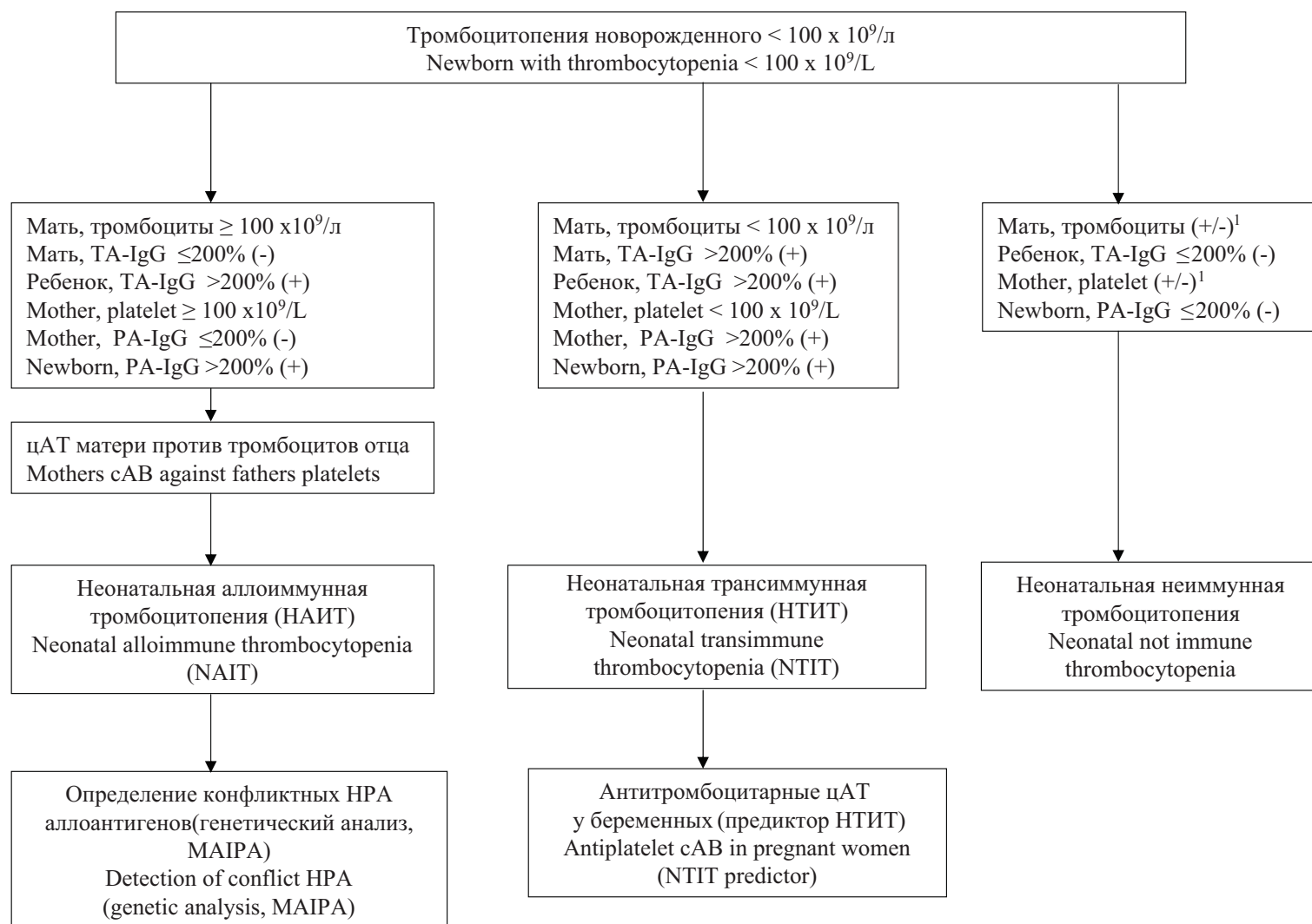


Рисунок 4. Алгоритм диагностики неонатальных иммунных тромбоцитопений. Подробно — см. текст. ¹ При отсутствии повышения TA-IgG у новорожденного диагноз неонатальной иммунной тромбоцитопении отклоняется вне зависимости от содержания тромбоцитов у матери

Figure 4. Diagnostic algorithm of neonatal immune thrombocytopenias. See text for details. ¹ In the absence of PA-IgG increase in the newborn diagnosis of immune thrombocytopenia is excluded independently of mother's platelet count

Литература

1. Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T., et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood*. 2009; 113: 2386–93.
2. Veneri D., Franchini M., Randon F., et al. Thrombocytopenias: a clinical point of view. *Blood Transfus.* 2009; 7: 75–85.
3. Psaila B., Bussel J.B. Immune thrombocytopenia (ITP). *Platelets*. (Michelson AD, ed.). Amsterdam, Boston, Heidelberg et al: Academic Press, Elsevier Inc. 2013: 819–33.
4. Roberts I., Murray N.A. Neonatal thrombocytopenia: causes and management. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003; 88: 359–64.
5. Roberts I.A.G., Chakravotny S. Thrombocytopenia in the newborn. *Platelets*. (Michelson AD, editor). Amsterdam, Boston, Heidelberg et al. Elsevier.: Academic Press. 2013: 929–52.
6. Bussel J.B., Primiani A. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: progress and ongoing debates. *Blood Reviews*. 2008; 22: 33–52.
7. Zdravic D., Yougbare I., Vadasz B., et al. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. 2016; 21: 19–27.

References

1. Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T., et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood*. 2009; 113: 2386–93.
2. Veneri D., Franchini M., Randon F., et al. Thrombocytopenias: a clinical point of view. *Blood Transfus.* 2009; 7: 75–85.
3. Psaila B., Bussel J.B. Immune thrombocytopenia (ITP). *Platelets*. (Michelson AD, ed.). Amsterdam, Boston, Heidelberg et al: Academic Press, Elsevier Inc. 2013: 819–33.
4. Roberts I., Murray N.A. Neonatal thrombocytopenia: causes and management. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003; 88: 359–64.
5. Roberts I.A.G., Chakravotny S. Thrombocytopenia in the newborn. *Platelets*. (Michelson AD, editor). Amsterdam, Boston, Heidelberg et al. Elsevier.: Academic Press. 2013: 929–52.
6. Bussel J.B., Primiani A. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: progress and ongoing debates. *Blood Reviews*. 2008; 22: 33–52.
7. Zdravic D., Yougbare I., Vadasz B., et al. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. 2016; 21: 19–27.

8. Lochowicz A.J., Curtis B.R. Clinical applications of platelet antibody and antigen testing. *Laboratory Medicine*. 2011; 42: 687–92.
9. Хаспекова С.Г., Головкина Л.Л., Донюш Е.К. и др. Несовместимость матери и плода по тромбоцитарным аллоантигенам HPA-1a, -1b и -15 — главные причины неонатальной аллоиммунной тромбоцитопении в России. *Терапевтический архив*. 2018; 90: 65–9.
10. Khaspekova S.G., Shustova O.N., Golubeva N.V., et al. Circulating anti-platelet antibodies in pregnant women with immune thrombocytopenic purpura as predictors of thrombocytopenia in the newborns. *Platelets*. 2019; 7: 1–5. DOI: 10.1080/09537104.2018.1557615
11. Curtis B.R., McFarland J.G. Human platelet antigens 2013. *Vox Sanguinis*. 2014; 106: 93–102.
12. Kaplan C., Heyu N., Freedman J. Alloimmune thrombocytopenia. *Platelets*. (Michelson AD, ed.). Amsterdam, Boston, Heidelberg et al: Academic Press, Elsevier Inc. 2013: 953–70.
13. Головкина Л.Л., Атрощенко Г.В., Пушкина Т.Д. и др. Распределение HPA-генов у больных и относительный риск аллоиммунизации при трансфузиях тромбоцитов. *Трансфузиология*. 2011; 12 (2): 36–7.
14. Kelton J.G. Idiopathic thrombocytopenic purpura complicating pregnancy. *Blood Rev*. 2002; 16: 43–6.
15. 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.
16. Golovkina L.L., Pushkina T.D., Mikhailova E.A., Savchenko V.G. Genetic risk factors in humoral immune response to platelet antigens HLA and HPA systems in multitransfused hematological patients. *Haematologica*. 2015; 100: 630.
17. Samuels P., Bussel J.B., Braitman L.E., et al. Estimation of the risk of thrombocytopenia in the offspring of pregnant women with presumed immune thrombocytopenic purpura. *N Eng J Med*. 1990; 323: 229–35.
18. Webert K.E., Mittal R., Sigouin C.A., et al. retrospective 11-year analysis of obstetric patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2003; 102: 4306–11.
19. Koyama S., Tomimatsu T., Kanagawa T., et al. Reliable predictors of neonatal immune thrombocytopenia in pregnant women with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am. J. Hematol*. 2012; 87: 15–21.
20. Payne S.D., Resnik R., Moore T.R., et al. Maternal characteristics and risk of severe neonatal thrombocytopenia and intracranial hemorrhage in pregnancies complicated by autoimmune thrombocytopenia. *Am J Obstet Gynecol*. 1997; 177: 149–55.
21. Yamada H., Kato E.H., Kobashi G., et al. Passive immune thrombocytopenia in neonates of mothers with idiopathic thrombocytopenic purpura: incidence and risk factors. *Semin Thromb Hemost*. 1999; 25: 491–6.
22. Kawaguchi K., Matsubara K., Takafuta T., et al. Factors predictive of neonatal thrombocytopenia in pregnant women with immune thrombocytopenia. *Int J Hematol*. 2014; 99: 570–76.
23. Mazzuccconi M.G., Petrelli V., Gandolfo G.M., et al. Autoimmune thrombocytopenic purpura in pregnancy: maternal risk factors predictive of neonatal thrombocytopenia. *Autoimmunity*. 1993; 16: 209–14.
8. Lochowicz A.J., Curtis B.R. Clinical applications of platelet antibody and antigen testing. *Laboratory Medicine*. 2011; 42: 687–92.
9. Khaspekova S.G., Golovkina L.L., Donush E.K., et al. Maternal incompatibilities with fetal human platelet alloantigens -1a, -1b and -15 are the main causes of neonatal alloimmune thrombocytopenia in Russia. *Terapevticheskiy Arkhiv*. 2018; 90: 65–9 (In Russian).
10. Khaspekova S.G., Shustova O.N., Golubeva N.V., et al. Circulating anti-platelet antibodies in pregnant women with immune thrombocytopenic purpura as predictors of thrombocytopenia in the newborns. *Platelets*. 2019; 7: 1–5. DOI: 10.1080/09537104.2018.1557615
11. Curtis B.R., McFarland J.G. Human platelet antigens 2013. *Vox Sanguinis*. 2014; 106: 93–102.
12. Kaplan C., Heyu N., Freedman J. Alloimmune thrombocytopenia. *Platelets*. (Michelson AD, ed.). Amsterdam, Boston, Heidelberg et al: Academic Press, Elsevier Inc. 2013: 953–70.
13. Golovkina L.L., Atroshchenko G.V., Pushkina T.D., et al. The distribution of HPA genes in patients and the relative risk of alloimmunization in platelet transfusions. *Transfuziologiya*. 2011; 12 (2): 36–7 (In Russian).
14. Kelton J.G. Idiopathic thrombocytopenic purpura complicating pregnancy. *Blood Rev*. 2002; 16: 43–6.
15. Khamaganova E.G., Kuzminova E.P., Chapova R.S., et al. HLA-A*/B*C*/DRB1*/DQB1*-genes and haplotypes in bone marrow donors of the FGBU "Hematology Research Center" Register of the Ministry of Health of Russia, self-determined as Russians. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2017; 62(2): 65–70 (In Russian).
16. Golovkina L.L., Pushkina T.D., Mikhailova E.A., Savchenko V.G. Genetic risk factors in humoral immune response to platelet antigens HLA and HPA systems in multitransfused hematological patients. *Haematologica*. 2015; 100: 630.
17. Samuels P., Bussel J.B., Braitman L.E., et al. Estimation of the risk of thrombocytopenia in the offspring of pregnant women with presumed immune thrombocytopenic purpura. *N Eng J Med*. 1990; 323: 229–35.
18. Webert K.E., Mittal R., Sigouin C.A., et al. retrospective 11-year analysis of obstetric patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2003; 102: 4306–11.
19. Koyama S., Tomimatsu T., Kanagawa T., et al. Reliable predictors of neonatal immune thrombocytopenia in pregnant women with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am. J. Hematol*. 2012; 87: 15–21.
20. Payne S.D., Resnik R., Moore T.R., et al. Maternal characteristics and risk of severe neonatal thrombocytopenia and intracranial hemorrhage in pregnancies complicated by autoimmune thrombocytopenia. *Am J Obstet Gynecol*. 1997; 177: 149–55.
21. Yamada H., Kato E.H., Kobashi G., et al. Passive immune thrombocytopenia in neonates of mothers with idiopathic thrombocytopenic purpura: incidence and risk factors. *Semin Thromb Hemost*. 1999; 25: 491–6.
22. Kawaguchi K., Matsubara K., Takafuta T., et al. Factors predictive of neonatal thrombocytopenia in pregnant women with immune thrombocytopenia. *Int J Hematol*. 2014; 99: 570–76.
23. Mazzuccconi M.G., Petrelli V., Gandolfo G.M., et al. Autoimmune thrombocytopenic purpura in pregnancy: maternal risk factors predictive of neonatal thrombocytopenia. *Autoimmunity*. 1993; 16: 209–14.

Информация об авторах

Хаспекова Светлана Георгиевна*, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: svkh@list.ru, тел.: +7(495)414-69-88, +7(916)146-46-07; 121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2906-9485>

Шустова Ольга Николаевна, младший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0822-3941>

Головкина Лариса Леонидовна, доктор медицинских наук, врач иммуногематолог клинической лабораторной диагностики высшей категории, руководитель лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9423-2640>

Мазуров Алексей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, исполняющий обязанности руководителя лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4470-0124>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 28.12.2018

Принята к печати: 14.05.2019

Information about the authors

Svetlana G. Khaspekova*, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, National Research Centre for Cardiology, e-mail: svkh@list.ru, tel.: +7(495)414-69-88, +7(916)146-46-07; 121552, Moscow, 3rd Cherepkovskaya str., 15a. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2906-9485>

Olga N. Shustova, Junior Researcher, National Research Centre for Cardiology, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0822-3941>

Larisa L. Golovkina, Dr. Sci. (Med.), Hematologist, Head of Laboratory, National Research Centre for Hematology, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9423-2640>

Aleksey V. Mazurov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Chief Researcher, Acting Head of the Laboratory, National Medical Research Centre for Cardiology, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4470-0124>

*** Corresponding author**

Received 28 Dec 2018

Accepted 14 May 2019

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ: НОВЫЕ АНТИМИКРОБНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Андрюков Б. Г.^{1,2,*}, Богданова В. Д.², Ляпун И. Н.¹

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, 690087, Владивосток, Россия

² Дальневосточный федеральный университет, Школа биомедицины, департамент фундаментальных наук, 690950, Владивосток, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Нейтрофилы — наиболее многочисленная субпопуляция циркулирующих в крови лейкоцитов, они составляют первую линию защиты врожденного звена иммунной системы.

Цель обзора: обобщить основные концепции фенотипической и функциональной гетерогенности нейтрофилов.

Основные сведения. В дополнение к антимикробным функциям нейтрофилов современные представления об этом пуле клеток крови отражают несколько новых стратегий захвата и уничтожения микроорганизмов: фагоцитоз и внутриклеточную деградацию, дегрануляцию и образование внеклеточных нейтрофильных ловушек после обнаружения микроорганизмов. Нейтрофилы рассматривают как фенотипически гетерогенный пул со значительной функциональной вариабельностью. В патологических условиях они могут дифференцироваться в дискретные субпопуляции с различными фенотипическими и функциональными характеристиками. Они способны входить во взаимодействие с макрофагами, природными киллерами, дендритными и мезенхимальными стволовыми клетками, В- и Т-лимфоцитами или тромбоцитами, проявлять разновекторные свойства по отношению к раковым опухолям. Нейтрофилы представляют собой фенотипический гетерогенный пул клеток крови. Они обладают высокой морфологической и функциональной вариабельностью, являются модуляторами как воспаления, так и активных эффекторов иммунных реакций. Актуальна проблема поиска молекулярных маркеров, позволяющих эффективно дифференцировать фенотипы нейтрофилов, установить степень их диагностической специфичности при различных патологиях.

Ключевые слова: нейтрофилы, гетерогенность, неоднородность, фенотип, антимикробные характеристики диагностика, гетерогенность нейтрофилов, фенотипические субпопуляции нейтрофилов, пластичность нейтрофилов

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Благодарность. Авторы благодарят младшего научного сотрудника лаборатории молекулярной микробиологии НИИЭМ имени Г.П. Сомова Бынину Марину Павловну за помощь в подготовке иллюстраций к статье.

Для цитирования: Андрюков Б.Г., Богданова В.Д., Ляпун И.Н. Фенотипическая гетерогенность нейтрофилов: новые антимикробные характеристики и диагностические технологии. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2): 211–221. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-211-221>

PHENOTYPIC HETEROGENEITY OF NEUTROPHILS: NEW ANTIMICROBIC CHARACTERISTICS AND DIAGNOSTIC TECHNOLOGIES

Andryukov B. G.^{1,2,*}, Bogdanova V. D.², Lyapun I. N.¹

¹G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia

²Far Eastern Federal University, School of Biomedicine, Department of Basic Sciences, 690950, Vladivostok, Russia

ABSTRACT

Introduction. Neutrophils are the most numerous subpopulation of leukocytes circulating in the blood; they constitute the first line of defence of the innate link of the immune system.

Aim. To generalize basic concepts about phenotypic and functional heterogeneity of neutrophils.

General findings. According to contemporary concepts, this type of blood cells performs not only antimicrobial functions, but also participates in capture and destruction of various microorganisms, including such processes as phagocytosis and intracellular degradation, degranulation and formation of extracellular neutrophilic traps after the detection of microorganisms. Neutrophils are considered to be a phenotypically heterogeneous pool of blood cells featuring a significant functional variability. Under pathological conditions, they can differentiate into discrete subpopulations with various phenotypic and functional characteristics. They are capable of interaction with macrophages, natural killers, dendritic and mesenchymal stem cells, B and T lymphocytes or platelets. In addition, neutrophils exhibit vector properties with respect to cancerous tumours. They possess a high morphological and functional variability, being modulators of both inflammation and active triggers of immune responses. A search for molecular markers able to efficiently differentiate neutrophil phenotypes and establish the degree of their diagnostic specificity for various pathologies is of a particular importance.

Keywords: neutrophils, heterogeneity, inhomogeneity, phenotype, antimicrobial characteristics, diagnostics, heterogeneity of neutrophils, phenotypic subpopulations of neutrophils, neutrophil plasticity.

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

Acknowledgments. The authors express their gratitude to Marina P. Bynina, junior researcher at the Laboratory of Molecular Microbiology of the G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, for her assistance in preparing illustrations for the article.

For citation: Andryukov B.G., Bogdanova V.D., Lyapun I.N. Phenotypic heterogeneity of neutrophils: new antimicrobial characteristics and diagnostic technologies. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(2):211–221 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-211-221>

Нейтрофилы, или полиморфноядерные нейтрофилы (ПМН) (polymorphonuclear neutrophils, PMN), являются наиболее многочисленным пулом лейкоцитов и основными клеточными компонентами врожденной иммунной системы человеческого организма и обладают как противоинойфекционной, так и провоспалительной функцией [1–4]. Традиционно считалось, что нейтрофилы являются относительно гомогенной популяцией терминально дифференцированных лейко-

цитов, что эти клетки, в отличие от лимфоцитов и моноцитов, обладают ограниченной универсальностью и пластичностью [1]. Однако полученные в последние годы данные показали, что ПМН представляют собой фенотипический гетерогенный пул и обладают высокой морфологической и функциональной вариабельностью [2, 3], что позволяет рассматривать нейтрофилы в качестве как важных модуляторов воспаления, так и активных эффекторов иммунных реакций [3, 4].

Еще в 1920 г. высказывались сомнения насчет гомогенности этого лейкоцитарного пула, основанные на сведениях, что циркулирующие нейтрофилы могут демонстрировать значительные различия в функциях, таких как фагоцитоз, синтез белка и окислительный обмен (цит. по [2]). Однако до недавнего времени лишь ограниченное количество исследований касалось фенотипических различий ПМН, и только благодаря обнаружению высокоспецифичных нейтрофильных маркеров стало возможным разделить эту субпопуляцию клеток на подмножества [2–4].

Целью настоящего обзора является обобщить основные концепции фенотипической и функциональной гетерогенности нейтрофилов с позиции их функций и роли в развитии физиологических и патологических реакций. Особое внимание будет уделено диагностической и иммуномодулирующей стратегиям.

Нейтрофилы: созревание и жизненный цикл

В нормальных условиях нейтрофилы образуются в костном мозге из морфологически неидентифицируемых гемопоэтических стволовых клеток, способных пролиферировать и дифференцироваться в белые и красные кровяные клетки и клетки — предшественники миелопоэза (гранулоцитарно-макрофагальная колониеобразующая единица (КОЕ-ГМ) гранулоцитарная колониеобразующая единица (КОЕ-Г) [3, 5–7]. Деление и созревание этих клеток стимулируются факторами роста (интерлейкинами, гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (ГМ-КСФ) и гранулоцитарным КСФ — основными цитокинами, регулирующим гранулопоэз в норме через рецептор гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, что приводит к формированию миелоидных пулов делящихся клеток (миелобластов, промиелоцитов и миелоцитов) и нейтрофилов, которые в процессе дифференцировки утратили способность к делению (метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных гранулоцитов). Неделящийся пул составляет основную массу гранулоцитарного костномозгового резерва, превышающий по численности клетки, циркулирующие в периферической крови, в 30–70 раз [5, 8, 9]. Основные функции костномозгового резерва — поддерживать гомеостаз гранулоцитов («гомеостатический гранулопоэз»), циркулирующих в крови, и мобилизовать дополнительное количество клеток («экстренный гранулопоэз») при возникающей необходимости (воспаление, инфекции, рак и другие) [10, 11]. О значении гранулопоэза для организма говорит тот факт, что клетки миелоидных пулов занимают около 2/3 объема костного мозга [10].

Для поддержания гомеостаза уровня нейтрофилов других клеток в периферической крови пролиферация и дифференцировка клеток-предшественников жестко

регулируется и контролируется несколькими внутренними и внешними факторами. Например, в нишах костного мозга гемопоэтические стволовые клетки сохраняются посредством взаимодействия мембранных β -интегринов с остеобластами и внеклеточным матриксом [4, 12, 13].

После созревания ПМН попадают в периферический кровоток (5×10^{10} – 10^{11} клеток в сутки), мигрируют в ткани, где они выполняют свои антимикробные функции. Соответственно, эквивалентное количество стареющих нейтрофилов должно быть удалено из кровообращения для сохранения гомеостаза. Нейтрофильный гомеостаз в периферической крови строго регулируется благодаря многокомпонентному механизму поддержания баланса между ростом ПМН, их дифференцировкой и элиминацией [4, 12]. Этот баланс обеспечивает выполнение этими клетками многочисленных функций с помощью фенотипической пластичности [3, 13]. Нарушение гомеостаза периферических нейтрофилов влияет на врожденный и адаптивный иммунитет, может привести к возникновению опасных для жизни инфекций, аутоиммунным или онкологическим заболеваниям.

На протяжении всей их жизни нейтрофилы по мере созревания претерпевают фенотипические переходы, которые могут быть продиктованы местным микроокружением в кровообращении и периферических тканях. Во время развития и созревания нейтрофилы проходят ряд последовательных стадий до формирования генерации зрелых нейтрофилов [12, 13]. Гранулопоэтическая популяция нейтрофилов в костном мозге делится на 3 различных пула: стволовых клеток, митотический и постмитотический. Пул стволовых клеток состоит из недифференцированных полипотентных клеток-предшественников. Митотический пул представлен миелоидными клетками-предшественниками, такими как миелобласты, промиелоциты, метамиелоциты и миелоциты. Постмитотический пул состоит из метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов. Наконец, зрелые нейтрофилы являются полностью дифференцированной клеточной генерацией, которая выходит из костного мозга и циркулирует в периферической крови.

По мере созревания и на разных стадиях дифференцировки в цитоплазме нейтрофилов появляются гранулы (азурофильные, специфические и желатиновые) и секреторные пузырьки, которые содержат антимикробные пептиды и ферменты: эластазы, миелопероксидазы, кателицидины, дефензины и матриксные металлопротеиназы, являющиеся эффективным инструментом для реализации антибактериальных стратегий ПМН [2, 10, 12].

Гранулярный аппарат нейтрофилов необходим для выполнения ими своей роли при врожденном иммунном ответе. Биологические молекулы, входящие

в состав гранул, реагируют на окружающие сигналы, стимулирующие миграцию нейтрофилов к очагу инфекции и фагоцитоз вторгающихся микробов, инициируют генерацию активных форм кислорода из НАДФН-оксидазы, протеаз и антимикробных пептидов, которые, действуя совместно, создают агрессивную внутрифагосомальную среду и вызывают микробную эрадикацию [10, 13–16].

Важность образования активных форм кислорода проявляется при хронических гранулематозных заболеваниях с дефектной окислительной функцией ПМН. Для этих пациентов характерны частые рецидивирующие бактериальные и грибковые инфекции [4, 12, 14].

Являясь важными эффекторами иммунной системы, нейтрофилы ведут постоянный мониторинг организма, выявляя признаки микробных инфекций. После их обнаружения они мигрируют через эндотелий кровеносных сосудов в очаг инфекции или воспаления с помощью механизма, известного как каскад адгезии лейкоцитов (в котором принимают также участие селектины, лиганды и интегрины), и убивают вторгшиеся микроорганизмы [2, 5, 15, 16].

Миграция нейтрофилов в ткани имеет решающее значение для защиты от микробных инфекций. Важность этой функции проявляется у больных с дефектами адгезии этих клеток, что приводит к нарушению их миграции через эндотелий кровеносных сосудов. Такие больные страдают от множественных бактериальных инфекций из-за неспособности нейтрофилов к фагоцитозу [17, 18].

После выполнения своей функции в тканях нейтрофилы подвергаются апоптозу или элиминируются посредством фагоцитоза резидентными макрофагами и дендритными клетками. Запрограммированная гибель нейтрофилов — апоптоз — критичный процесс, модулирующий их количество и функции, запуская каскад противовоспалительных реакций и снижения продукции нейтрофилов [3, 17, 19–21].

В настоящее время признаны три основные противомикробные стратегии нейтрофилов: фагоцитоз, дегрануляция, и формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps,

NETs) (рис. 1). NETs представляют собой защитный механизм, впервые описанный как средство улавливания и уничтожения бактерий и других патогенов [11, 22, 23]. Осуществляя такого рода внеклеточный киллинг микроорганизмов, нейтрофилы погибают через NETosis [11, 24].

Для выпуска сети активированные нейтрофилы претерпевают драматические морфологические изменения. Через минуты после активации они сплющиваются и крепко прикрепляются к субстрату. В течение следующего часа ядро теряет свои дольки, происходит деконденсация хроматина, а внутренние и внешние ядерные мембраны постепенно отделяются друг от друга. Одновременно гранулы распадаются. Через 1 ч ядерная оболочка дезагрегируется в везикулы, а нуклеоплазма и цитоплазма образуют гомогенную массу. Наконец, клетки округляются и, по-видимому, сжимаются до тех пор, пока клеточная мембрана не разрывается, а внутренняя часть клетки выбрасывается во внеклеточное пространство, образуя NETs [25].

Эти противомикробные стратегии до настоящего времени считались единственной функцией нейтрофилов. Однако недавние исследования биологии этих клеток показали, что они обладают разнообразным набором функциональных реакций, которые выходят за рамки простого уничтожения микроорганизмов [17, 18, 25].

Широкий спектр функциональных ответов нейтрофилов индуцируется активацией транскрипции и изменениями в экспрессии поверхностных молекул и их активности. Эти фенотипические изменения обычно обнаруживаются только в подгруппе нейтрофилов, что позволяет предположить наличие гетерогенных фенотипов этих клеток [3, 17, 19, 26].

Гетерогенность нейтрофилов

Теория гетерогенности нейтрофилов зародилась более 50 лет назад, когда была предложена концепция маргинального пула нейтрофилов [4, 19, 27], либо прикрепленных к сосудам, либо находящихся полностью вне циркуляционного русла. Они могут быть мобилизованы при стимуляции [5, 28]. Эксперименты проводились с использованием радиоактивной метки ней-



Рисунок 1. Антибактериальные стратегии нейтрофилов: 1 — фагоцитоз; 2 — дегрануляция; 3 — нейтрофильные ловушки (рисунок авторов, световая микроскопия)
Figure 1. Antibacterial strategies of neutrophils: 1 — phagocytosis; 2 — degranulation; 3 — neutrophilic traps (the authors' picture, light microscopy)

трофилов и помогли определить в качестве резервуаров для них селезенку, печень и костный мозг, так как требуется меньше времени для прохождения через эти органы. Вопрос о легких в качестве резервуара для нейтрофилов остается открытым [12, 26, 29]. При оценке гетерогенности нейтрофилов могут быть исследованы такие параметры, как функции клеток, маркеры клеточной поверхности, зрелость, плотность и локализация. Концепция подмножества нейтрофилов справедлива при заболевании раком, инфекционном процессе, аутоиммунитете, воспалении и репарации [27, 28].

В нормальных условиях нейтрофилы остаются в кровообращении всего несколько часов, прежде чем начинают мигрировать в ткани [30]. В течение этого времени нейтрофилы, по-видимому, меняют свой фенотип. Наблюдения каждые 4 часа за циркулирующими у здоровых мышей нейтрофилами в течение дня, показали, что эти клетки меняют свою морфологию и фенотип [21, 30, 31].

Известно много описанных фенотипов нейтрофилов, но в литературе приводится отличная друг от друга информация, поскольку в каждом опыте исследовались разные функции, использовались различные методы изучения, виды ткани, биомаркеры [32, 33].

Ж.М. Adrover и соавт. [22] обратили внимание на циркадные ритмы изменения функционализации нейтрофилов. Недавно вышедшие из костного мозга нейтрофилы («свежие» клетки) претерпевали несколько метаболических изменений, которые накапливались до начала миграции из кровотока в ткани. Авторы назвали эти изменения в фенотипе гранулоцитов в отсутствие воспаления старением [22].

Нейтрофилы считаются дифференцированными клетками, которые прогрессируют от незрелых форм в костном мозге до циркуляции зрелых неактивных клеток. При последующей активации во время воспалительных состояний они перемещаются из сосудов в ткани и выполняют свои функции (например фагоцитоз, производство активных форм кислорода и уничтожение бактерий) [34]. Нейтрофилы могут быстро изменять свои характеристики и манеру поведения по мере активации, созревания или изменения внешней среды [35]. Кроме того, активность нейтрофилов в ответ на различные медиаторы при остром или хроническом воспалительном процессе может продлить жизнь клетки, дать возможность произвести альтернативные эффекторные и иммунорегуляторные молекулы [34, 35].

Наконец, нейтрофилы играют совершенно полярные роли в различных врожденных иммунных реакциях, возникающих в ответ на стерильную травму, инфекцию, рак, а также в реакциях аутоиммунитета. Поэтому неудивительно, что нейтрофилы с многочисленными разновекторными функциями были идентифицированы в последние годы в разных условиях [33, 36, 37].

Такая пластичность функций нейтрофилов, отмеченная и российскими учеными [32], побудила исследователей изучить область фенотипической и функциональной гетерогенности нейтрофилов, как это было сделано для лимфоцитов [38]. Появилась возможность вычленивать регуляторные, супрессорные, провоспалительные, воспалительные, противоопухолевые, проопухолевые и гибридные субпопуляции нейтрофилов [39]. Помимо классического антагонистического участия в антимикробных реакциях, нейтрофилы также играют значительную роль в модуляции различных типов раковых опухолей.

Фенотипическая гетерогенность нейтрофилов при раке

В вопросах влияния на опухолевый процесс нейтрофилы в течение длительного времени были обделены вниманием исследователей по сравнению с другими иммунокомпетентными клетками [39, 40]. Одной из причин этого, по-видимому, является небольшая продолжительность жизни гранулоцитов, которая, как считалось, слишком мала (в среднем 7 ч в циркулирующей крови и еще около 5 суток в тканях), чтобы влиять на прогрессию рака [41].

Однако в публикации М. Kurashige и соавт. [41] были подтверждены результаты экспериментальных исследований Y. Sawanobori и соавт. [42] с использованием молекулярных маркеров, которые позволили пересмотреть и эти фундаментальные положения [41, 42].

Экспериментальные исследования, выполненные на животных, показали, что продолжительность жизни тканевых нейтрофилов увеличивается на несколько дней в опухолях, микроокружение которых способствует их выживанию как локально, так и системно. Установлено, что средний период продолжительности жизни циркулирующих нейтрофилов у больных раком увеличен до 5,4 дня [44, 45], что более чем в 20 раз больше, чем было обнаружено ранее [44], и расценено исследователями как следствие передачи сигналов опухолевыми цитокинами на Г-КСФ [42].

Использование современных молекулярно-генетических инструментов позволило получить новые данные об участии ПМН на всех стадиях процесса канцерогенеза: от инициации опухолевого генотипа до инвазивного роста и метастазирования злокачественной опухоли [39, 40, 46]. По результатам этих исследований установили ведущую роль нейтрофилов в канцерогенезе, связанную с их способностью изменять поведение других иммунокомпетентных клеток в развитии опухолевого процесса [46].

Изменения функций нейтрофилов и их фенотипическая гетерогенность при раке являются в настоящее время наиболее изученными и наиболее интересными метаморфозами. Эти клетки крови играют важную и противоречивую роль в развитии раковых

опухолей, что отражено в ряде современных обзоров [39, 40, 43, 46–49].

Этот функциональный дуализм нейтрофилов по отношению к опухолям в течение длительного времени был предметом споров, в которых оппоненты приводили убедительные доказательства в пользу как про-, так и противоопухолевой роли этих гранулоцитов. Это привело к возникновению гипотезы о неоднородности популяции ПМН и существовании нескольких субпопуляций, функции которых при раковых опухолях могут значительно отличаться. На всех этапах развития рака нейтрофилы формируют разные клеточные фенотипы, которые выполняют разновекторные функции. Установлено, что эти гранулоциты в организме опосредуют про- (клеточный фенотип N2) и противоопухолевые реакции (фенотип N1), которые вызывают прогрессию или ингибирование опухолевых клеток [47, 48].

С одной стороны, клетки N2 способствуют росту опухоли [39, 47], ангиогенезу — новообразованию в опухоли сети кровеносных сосудов [49] и активируют метастазирование опухолевых клеток [48], индуцируя иммунодепрессию [40] и иницируя подготовку тканей к раковой колонизации — создание предметастатической ниши [50]. С другой стороны, клетки N1 проявляют противоопухолевую активность, уничтожая раковые клетки непосредственно [51, 52] либо через антителозависимую цитотоксичность, ограничивающую распространение опухоли [33, 40, 46].

Индукция этих фенотипов ПМН регулируется сигналами, исходящими от раковых или стромальных клеток из микроокружения опухоли, связана как с местными, так и системными реакциями и в настоящее время является предметом пристального внимания и изучения исследователей [33, 39, 46, 49].

Мы сосредоточимся на регуляции поведения ПМН сигналами, исходящими из микроокружения опухоли, а также на диагностическом и терапевтическом потенциале гетерогенных фенотипов миелоидных клеток. Чем же обусловлен этот функциональный дуализм нейтрофилов по отношению к раковым опухолям? В последние годы установлено, что вектор проопухолевой активности этих клеток зависит от двух условных типов подмножеств ПМН в зависимости от их плотности: высокой (HDN, от англ. high density neutrophils), обеспечивающих противоопухолевую защиту организма (соответствует фенотипу N1), и низкой (LDN, low density neutrophils) — с проопухолевой и иммунодепрессирующей активностью (соответствует фенотипу N2), а также отношением этих клеточных фенотипов [53–56].

В практике выделения нейтрофильных кластеров HDN и LDN для последующего изучения их функциональных характеристик применяются несколько протоколов, включающих в себя сбор и очистку клеток

крови человека или мыши [53, 55, 56] (рис. 2). В основе всех методов — выделение гранулоцитов путем градиентного центрифугирования разведенной периферической крови (1:5) с полисахаридами соответствующей плотности (Histopaque-1077, перколл или фикоколл — 3 мл). Кровь забирается с гепарином лития, эритроциты перед центрифугированием лизируются. Центрифугирование проводится при 1600 g в течение 20 мин (1000 g /30 мин) [53, 57].

От вариаций протоколов зависит чистота выделенных клеточных фракций HDN и LDN, которые могут быть дополнительно обогащены при использовании специфических нейтрофильных антител, магнитных бус и разделительных колонок [53, 55, 56].

В последние годы интерес к субпопуляциям высокой и низкой плотности в контексте их проопухолевой активности значительно увеличился, появляется все больше данных о важной роли этих клеточных фенотипов в биологии опухолевого роста, а также механизмах регуляции раковыми клетками индукции N2-нейтрофилов [39, 53, 58, 59].

В связи с этим концепции о терминальной дифференцировке ПМН и их функциях, ограниченных антимикробной защитой и участием в воспалениях, постепенно пересматриваются [39, 47–49, 53, 59, 60]. Например, было установлено [53, 59], что у здоровых мышей более 95 % нейтрофилов в крови представлены клетками высокой плотности (N1), в то время как при возникновении злокачественной опухоли (рак молочной железы, легких, мезотелиома) у них возникала активная генерация нейтрофилов низкой плотности (N2), которые становились доминирующей циркулирующей субпопуляцией. При этом в костном мозге было достаточно много HDN, и увеличение соотношения субпопуляций в пользу LDN не было следствием простого медуллярного истощения клеток высокой плотности [53].

Аналогичная картина наблюдалась и у больных опухолями различной локализации. При этом и у мышей, и у людей доминирующая субпопуляция LDN была неоднородной и состояла из зрелых и незрелых клеток, в то время как фенотип HDN был однородным и представлен только зрелыми клетками [49, 53].

Механизмы, с помощью которых опухоли индуцируют N2-нейтропоз, до конца не изучены, хотя в ряде исследований была показана активация клеток-предшественников гранулопоза (ГМ-КСФ и Г-КСФ) и прогностическое значение отношения численности LDN-кластера гранулоцитов к лимфоцитам при нескольких типах злокачественных новообразований [51, 52].

Недавние исследования R. Kanamaru и соавт. [9] показали, что внеклеточные ловушки (NETs), высвобожденные нейтрофилами LDN-кластера, выделенными из перитонеального лаважа у больных, прооперированных по поводу рака желудка, не только не уничтожали

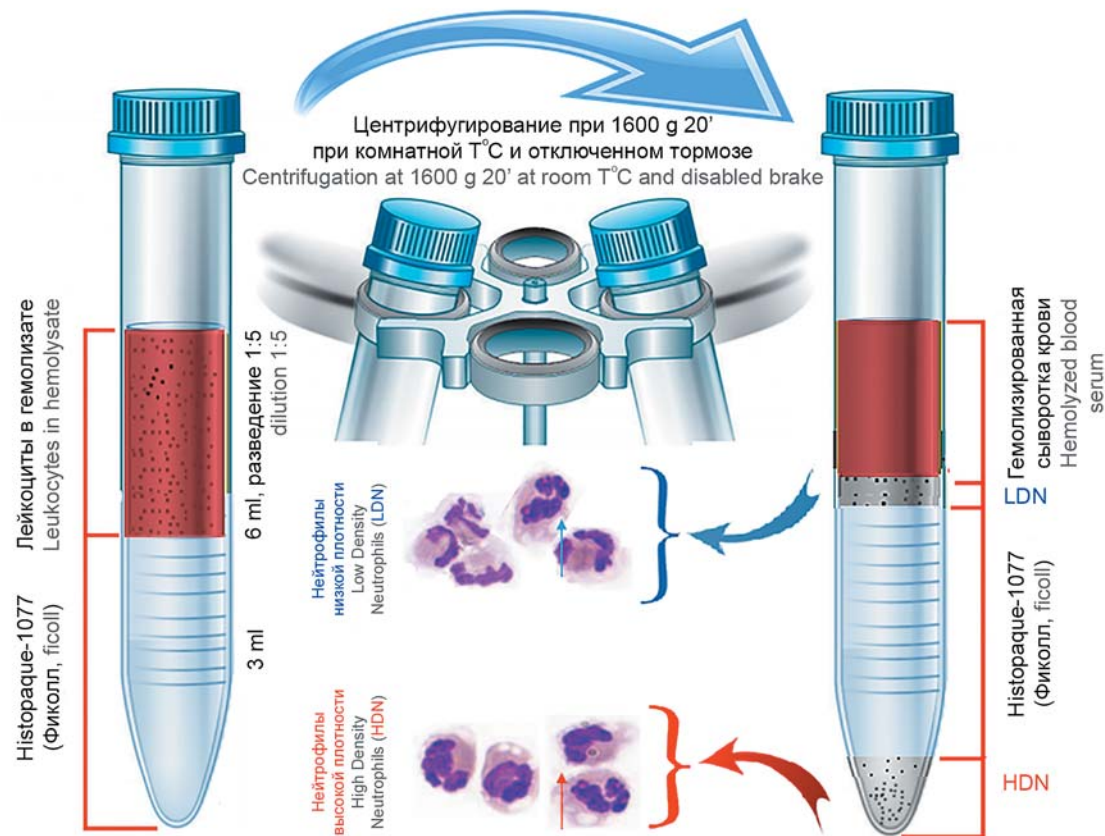


Рисунок 2. Выделение нейтрофилов высокой (HDN) и низкой (LDN) плотности из периферической крови методом градиентного центрифугирования (рисунок авторов, пояснения в тексте)

Figure 2. Isolation of neutrophils of a high (HDN) and low (LDN) density from peripheral blood by gradient centrifugation (the authors' picture, explanations in the text)

свободные раковые клетки, но и активировали их пролиферацию после прикрепления к NETs [9].

Один из механизмов индукции образования N2-нейтрофилов, выявленный указанными исследователями, связан со стимулирующим влиянием микроокружения опухоли, точнее, с трансформирующим фактором роста- β , который индуцирует созревание в костном мозге и миграцию в ткани проопухолевого фенотипа нейтрофилов N2, изменяя локальное соотношение гранулоцитов N2:N1 в пользу первых.

Функциональная дифференциация нейтрофилов приводит к появлению различных фенотипов под влиянием конкретных опухолевых факторов, среди которых наиболее изученными являются трансформирующий фактор роста- β , Г-КСФ и интерферон- β .

Таким образом, в дополнение к классическим антимикробным стратегиям, в последние годы был охарактеризован ряд других функций нейтрофилов, что вызвало большой интерес врачей и биологов в мире. Многочисленные свидетельства того, что разные фенотипы нейтрофилов обнаружены в различных тканях и при различных патологических состояниях, позволяют предположить, что действительно существуют подмножества нейтрофилов [39, 47–49, 53, 59]. Однако отсутствие прямых экспериментальных дока-

зательств, основанных на многократных исследованиях, не дает основания утверждать о наличии гетерогенных подгрупп нейтрофилов. Поэтому большинство практикующих врачей и гематологов считают этот клеточный пул относительно гомогенной популяцией с минимальным фенотипическим и функциональным разнообразием [48, 49, 57, 58]. Среди причин этого заблуждения тот факт, что исследования нейтрофилов все еще в значительной степени определяются их морфологией [59, 60].

Недавно выявленные с помощью градиентного центрифугирования факты наличия нейтрофилов разной плотности и их разновекторного участия в физиологических и патологических состояниях организма, возможно, вызовут смену парадигмы о функциональной гомогенности нейтрофилов [50].

Пока же приведенные в обзоре результаты исследований вызывают ряд вопросов относительно фенотипической специализации нейтрофилов. Бывают ли эти клетки запрограммированными на определенный фенотип уже до выхода из костного мозга в периферическую кровь, или высокая пластичность позволяет им трансформироваться в определенные субпопуляции уже в тканях? Возможно ли перепрограммировать уже имеющиеся фенотипы? По-прежнему остается

актуальной проблема поиска надежных молекулярных маркеров, позволяющих эффективно дифференцировать фенотипы нейтрофилов, установить степень их диагностической специфичности при различных патологиях. И, наконец, обозначить перспективы определения нейтрофилов как терапевтической страте-

гии в иммунопатологии. В любом случае, полученные результаты выявляют потенциальные направления, на которые могут быть направлены терапевтические и диагностические стратегии усиления противоопухолевой нейтрофильной активности для раннего выявления и ограничения опухолевого роста.

Литература

1. de Oliveira S., Rosowski E.E., Huttenlocher A. Neutrophil migration in infection and wound repair: going forward in reverse. *Nature Reviews Immunology*. 2016; 16(6): 378. DOI: 10.1038/nri.2016.49
2. Wang J., Hossain M., Thanabalasuriar A., et al. Visualizing the function and fate of neutrophils in sterile injury and repair. *Science*. 2017; 358(6359): 111–6. DOI: 10.1126/science.aam9690
3. Jones H. R., Robb C. T., Perretti M., et al. The role of neutrophils in inflammation resolution. *Seminars in immunology. Academic Press*. 2016; 289(2): 137–45. DOI: 10.1016/j.smim.2016.03.007
4. Kaur M., Singh D. Neutrophil chemotaxis caused by chronic obstructive pulmonary disease alveolar macrophages: the role of CXCL8 and the receptors CXCR1/CXCR2. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2013; 347(1): 173–80. DOI: 10.1124/jpet.112.201855
5. Андрюков Б.Г., Сомова Л.М., Дробот Е.И., Матосова Е.В. Антимикробные стратегии нейтрофилов при инфекционной патологии. *Клин. лаб. диагностика*. 2016; 12(61): 825–33. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-12-825-833
6. Wirths S., Stefanie Bugl S., Kopp H.-G. Steady-state neutrophil homeostasis is a demand-driven process. *Cell Cycle*. 2013; 12(5): 709–10. DOI: 10.4161/cc.23859
7. Cain D.W., Ueda Y., Holl T.M., et al. A comparison of “steady-state” and “emergency” granulopoiesis: evidence of a single pathway for neutrophil production. *The Journal of Immunology*, 2009; 182 (1): 87–95.
8. Cowland J.B., Borregaard N. Granulopoiesis and granules of human neutrophils. *Immunological reviews*. 2016; 273(1): 11–28. DOI: 10.1111/imr.12440/
9. Kanamaru R., Ohzawa H., Miyato H., et al. Neutrophil Extracellular Traps Generated by Low Density Neutrophils Obtained from Peritoneal Lavage Fluid Mediate Tumor Cell Growth and Attachment. *J Vis Exp*. 2018; 138. DOI: 10.3791/58201
10. Witko-Sarsat V., Pederzoli-Ribeil M., Hirsch E., et. al. Regulating neutrophil apoptosis: new players enter the game. *Trends Immunol*. 2011; 32: 117–24. DOI: 10.1016/j.it.2011.01.001
11. Luo D., McGettrick H.M., Stone P.C., et al. The roles of Integrins of Human Neutrophils after their migration through endothelium into intestinal matrix. *PLOS One*. 2015; 10(2): e0118593. DOI: 10.1371/journal.pone.0118593
12. Steinberg B.E., Grinstein S. Unconventional roles of the NADPH oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death. *Science's STKE*. 2007; 2007(379): pe11. DOI: 10.1126/stke.3792007pe11
13. Marini O., Costa S., Bevilacqua D., et al. Mature CD10+ and immature CD10-neutrophils present in G-CSF-treated donors display opposite effects on T cells. *Blood*. 2016; 04: 713206. DOI: 10.1182/blood-2016-04-713206
14. Dopico X. C., Evangelou M., Ferreira R. C., et al. Widespread seasonal gene expression reveals annual differences in human immunity and physiology. *Nature communications*. 2015; 6: 7000. DOI: 10.1038/ncomms8000
15. Kim M. H., Yang D., Kim M., et al. A late-lineage murine neutrophil precursor population exhibits dynamic changes during demand-adapted granulopoiesis. *Scientific reports*. 2017; 7: 39804. DOI: 10.1038/srep39804

References

1. de Oliveira S., Rosowski E.E., Huttenlocher A. Neutrophil migration in infection and wound repair: going forward in reverse. *Nature Reviews Immunology*. 2016; 16(6): 378. DOI: 10.1038/nri.2016.49
2. Wang J., Hossain M., Thanabalasuriar A., et al. Visualizing the function and fate of neutrophils in sterile injury and repair. *Science*. 2017; 358(6359): 111–6. DOI: 10.1126/science.aam9690
3. Jones H. R., Robb C. T., Perretti M., et al. The role of neutrophils in inflammation resolution. *Seminars in immunology. Academic Press*. 2016; 289(2): 137–45. DOI: 10.1016/j.smim.2016.03.007
4. Kaur M., Singh D. Neutrophil chemotaxis caused by chronic obstructive pulmonary disease alveolar macrophages: the role of CXCL8 and the receptors CXCR1/CXCR2. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2013; 347(1): 173–80. DOI: 10.1124/jpet.112.201855
5. Andryukov B.G., Somova L.M., Drobot Ye.I., Matosova Ye.V. Antimicrobial strategies of neutrophils in infectious diseases. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2016; 12(61): 825–33 (In Russian). DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-12-825-833
6. Wirths S., Stefanie Bugl S., Kopp H.-G. Steady-state neutrophil homeostasis is a demand-driven process. *Cell Cycle*. 2013; 12(5): 709–10. DOI: 10.4161/cc.23859
7. Cain D.W., Ueda Y., Holl T.M., et al. A comparison of “steady-state” and “emergency” granulopoiesis: evidence of a single pathway for neutrophil production. *The Journal of Immunology*, 2009; 182 (1): 87–95.
8. Cowland J.B., Borregaard N. Granulopoiesis and granules of human neutrophils. *Immunological reviews*. 2016; 273(1): 11–28. DOI: 10.1111/imr.12440/
9. Kanamaru R., Ohzawa H., Miyato H., et al. Neutrophil Extracellular Traps Generated by Low Density Neutrophils Obtained from Peritoneal Lavage Fluid Mediate Tumor Cell Growth and Attachment. *J Vis Exp*. 2018; 138. DOI: 10.3791/58201
10. Witko-Sarsat V., Pederzoli-Ribeil M., Hirsch E., et. al. Regulating neutrophil apoptosis: new players enter the game. *Trends Immunol*. 2011; 32: 117–24. DOI: 10.1016/j.it.2011.01.001
11. Luo D., McGettrick H.M., Stone P.C., et al. The roles of Integrins of Human Neutrophils after their migration through endothelium into intestinal matrix. *PLOS One*. 2015; 10(2): e0118593. DOI: 10.1371/journal.pone.0118593
12. Steinberg B.E., Grinstein S. Unconventional roles of the NADPH oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death. *Science's STKE*. 2007; 2007(379): pe11. DOI: 10.1126/stke.3792007pe11
13. Marini O., Costa S., Bevilacqua D., et al. Mature CD10+ and immature CD10-neutrophils present in G-CSF-treated donors display opposite effects on T cells. *Blood*. 2016; 04: 713206. DOI: 10.1182/blood-2016-04-713206
14. Dopico X. C., Evangelou M., Ferreira R. C., et al. Widespread seasonal gene expression reveals annual differences in human immunity and physiology. *Nature communications*. 2015; 6: 7000. DOI: 10.1038/ncomms8000
15. Kim M. H., Yang D., Kim M., et al. A late-lineage murine neutrophil precursor population exhibits dynamic changes during demand-adapted granulopoiesis. *Scientific reports*. 2017; 7: 39804. DOI: 10.1038/srep39804

16. Garlachs C.D., Eskafi S., Cicha I., et al. Delay of neutrophil apoptosis in acute coronary syndromes. *Journal of leukocyte biology*. 2004; 75(5): 828–35. DOI: 10.1189/jlb.0703358
17. Summers C., Singh N. R., White J. F., et al. Pulmonary retention of primed neutrophils: a novel protective host response, which is impaired in the acute respiratory distress syndrome. *Thorax*. 2014; thoraxjnl-2013-204742. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2013-204742
18. Матосова Е.В., Андрюков Б.Г. Морфофункциональная характеристика защитных механизмов нейтрофилов при бактериальных инфекциях и их вклад в патогенез провоспалительных реакций. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 223–9. DOI: 10.18821/0234-5730-2017-62-4-223-229
19. Jorgensen I., Rayamajhi M., Miao E.A. Programmed cell death as a defence against infection. *Nature reviews immunology*. 2017; 17(3): 151. DOI: 10.1038/nri.2016.147
20. Jorgensen I., Lopez J.P., Laufer S.A., et al. IL-1 β , IL-18, and eicosanoids promote neutrophil recruitment to pore-induced intracellular traps following pyroptosis. *European journal of immunology*. 2016; 46(12): 2761–6. DOI: 10.1002/eji.201646647
21. Rodriguez F.M., Novak I.T.C. What about the neutrophil's phenotypes? *Hematol Med Oncol*. 2017; 2: 1–6. DOI: 10.15761/HMO.1000130
22. Adrover J.M., Nicolás-Ávila J.A., Hidalgo A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol*. 2016; 37: 334–45. DOI: 10.1016/j.it.2016.03.005
23. Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *J Cell Biol*. 2012; 198(5): 773–83. DOI: 10.1083/jcb.201203170
24. Silvestre-Roig C., Hidalgo A., Soehnlein O. Neutrophil heterogeneity: implications for homeostasis and pathogenesis. *Blood*. 2016 127:2173-2181 DOI: 10.1182/blood-2016-01-688887
25. Horckmans M., Ring L., Duchene J., et al. Neutrophils orchestrate postmyocardial infarction healing by polarizing macrophages towards a reparative phenotype. *Eur Heart J*. 2017; 38: 187–97. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw002
26. Hellebrekers P., Vrisekoop N., Koenderman L. Neutrophil phenotypes in health and disease. *Eur J Clin Invest*. 2018; 48 Suppl 2: e12943. DOI: 10.1111/eci.12943
27. Sagiv J.Y., Voels S., Granot Z. Isolation and Characterization of Low- vs High-Density Neutrophils in Cancer. *Methods Mol Biol*. 2016; 1458: 179–93. DOI: 10.1007/978-1-4939-3801-8_13
28. Kuhns D.B., Priel D.A.L., Chu J., et al. Isolation and Functional Analysis of Human Neutrophils. *Curr Protoc Immunol*. 2015; 111: 7.23.1–16. DOI: 10.1002/0471142735.im0723s111
29. Deniset J.F., Kubes P. Neutrophil heterogeneity: Bona fide subsets or polarization states? *J Leukoc Biol*. 2018; 103(5): 829–38. DOI: 10.1002/JLB.3RI0917-361R
30. Mortaz E., Alipoor S.D., Adcock I.M., et al. Update on Neutrophil Function in Severe Inflammation. *Front Immunol*. 2018; 9: 2171. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02171
31. Bekkering S., Torensma R. Another look at the life of a neutrophil. *World J Hematol* 2013; 2(2): 44–58. DOI: 10.5315/wjh.v2.i2.44
32. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А. и др. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 1. *Инфекция и иммунитет*. 2018; 7(3): 219–30. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230
33. Galdiero M. R., Bonavita E., Barajon I., et al. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer. *Immunobiology*. 2013; 218(11): 1402–10. DOI: 10.1016/j.imbio.2013.06.003
16. Garlachs C.D., Eskafi S., Cicha I., et al. Delay of neutrophil apoptosis in acute coronary syndromes. *Journal of leukocyte biology*. 2004; 75(5): 828–35. DOI: 10.1189/jlb.0703358
17. Summers C., Singh N. R., White J. F., et al. Pulmonary retention of primed neutrophils: a novel protective host response, which is impaired in the acute respiratory distress syndrome. *Thorax*. 2014; thoraxjnl-2013-204742. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2013-204742
18. Matosova E.V., Andryukov B.G. Morphofunctional characteristics of protective mechanisms of neutrophils against bacterial infections and their contribution in pathogenesis of pro-inflammatory. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2017; 62(4): 223–9 [In Russian]. DOI: 10.18821/0234-5730-2017-62-4-223-229
19. Jorgensen I., Rayamajhi M., Miao E.A. Programmed cell death as a defence against infection. *Nature reviews immunology*. 2017; 17(3): 151. DOI: 10.1038/nri.2016.147
20. Jorgensen I., Lopez J.P., Laufer S.A., et al. IL-1 β , IL-18, and eicosanoids promote neutrophil recruitment to pore-induced intracellular traps following pyroptosis. *European journal of immunology*. 2016; 46(12): 2761–6. DOI: 10.1002/eji.201646647
21. Rodriguez F.M., Novak I.T.C. What about the neutrophil's phenotypes? *Hematol Med Oncol*. 2017; 2: 1–6. DOI: 10.15761/HMO.1000130
22. Adrover J.M., Nicolás-Ávila J.A., Hidalgo A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol*. 2016; 37: 334–45. DOI: 10.1016/j.it.2016.03.005
23. Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *J Cell Biol*. 2012; 198(5): 773–83. DOI: 10.1083/jcb.201203170
24. Silvestre-Roig C., Hidalgo A., Soehnlein O. Neutrophil heterogeneity: implications for homeostasis and pathogenesis. *Blood*. 2016 127:2173-2181 DOI: 10.1182/blood-2016-01-688887
25. Horckmans M., Ring L., Duchene J., et al. Neutrophils orchestrate postmyocardial infarction healing by polarizing macrophages towards a reparative phenotype. *Eur Heart J*. 2017; 38: 187–97. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw002
26. Hellebrekers P., Vrisekoop N., Koenderman L. Neutrophil phenotypes in health and disease. *Eur J Clin Invest*. 2018; 48 Suppl 2: e12943. DOI: 10.1111/eci.12943
27. Sagiv J.Y., Voels S., Granot Z. Isolation and Characterization of Low- vs High-Density Neutrophils in Cancer. *Methods Mol Biol*. 2016; 1458: 179–93. DOI: 10.1007/978-1-4939-3801-8_13
28. Kuhns D.B., Priel D.A.L., Chu J., et al. Isolation and Functional Analysis of Human Neutrophils. *Curr Protoc Immunol*. 2015; 111: 7.23.1–16. DOI: 10.1002/0471142735.im0723s111
29. Deniset J.F., Kubes P. Neutrophil heterogeneity: Bona fide subsets or polarization states? *J Leukoc Biol*. 2018; 103(5): 829–38. DOI: 10.1002/JLB.3RI0917-361R
30. Mortaz E., Alipoor S.D., Adcock I.M., et al. Update on Neutrophil Function in Severe Inflammation. *Front Immunol*. 2018; 9: 2171. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02171
31. Bekkering S., Torensma R. Another look at the life of a neutrophil. *World J Hematol* 2013; 2(2): 44–58. DOI: 10.5315/wjh.v2.i2.44
32. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., et al. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 1. *Infekciya i immunitet*. 2018; 7(3): 219–30 [In Russian]. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230
33. Galdiero M. R., Bonavita E., Barajon I., et al. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer. *Immunobiology*. 2013; 218(11): 1402–10. DOI: 10.1016/j.imbio.2013.06.003

34. Lai Guan Ng. Neutrophil: A mobile fertilizer *J Exp Med.* 2019; 216(1): 4–6. DOI: 10.1084/jem.20182059
35. Mishalian I., Granot Z., Fridlender Z.G. The diversity of circulating neutrophils in cancer. *Immunobiology.* 2017; 222(1): 82–8. DOI: 10.1016/j.imbio.2016.02.001
36. McCracken J.M., Allen L.A.H. Regulation of Human Neutrophil Apoptosis and Lifespan in Health and Disease. *J Cell Death.* 2014; 7: 15–23. DOI: 10.4137/JCD.S11038
37. Je Lin Sieow, Sin Yee Gun, Siew Cheng Wong The Sweet Surrender: How Myeloid Cell Metabolic Plasticity Shapes the Tumor Microenvironment. *Front Cell Dev Biol.* 2018; 6: 168. DOI: 10.3389/fcell.2018.00168
38. Sionov R.V., Fridlender Z.G., Granot Z. The multifaceted roles neutrophils play in the tumor microenvironment. *Cancer Microenviron.* 2014; 8(3):125–58.
39. Coffelt S.B., Wellenstein M.D., de Visser K.E. Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nature Reviews Cancer.* 2016; 16(7): 431. DOI: 10.1038/nrc.2016.52/
40. Swierczak A., Mouchemore K.A., Hamilton J.A., Anderson R.L. Neutrophils: important contributors to tumor progression and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2015; 34(4): 735–51. DOI: 10.1007/s10555-015-9594-9
41. Kurashige M., Kohara M., Ohshima K., et al. Origin of cancer-associated fibroblasts and tumor-associated macrophages in humans after sex-mismatched bone marrow transplantation. *Commun Biol.* 2018; 1: 131.
42. Sawanobori Y., Ueha S., Kurachi M., et al. Chemokine-mediated rapid turnover of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. *Blood.* 2008; 111(12): 5457–66. DOI: 10.1182/blood-2008-01-136895
43. Granot Z., Henke E., Comen E.A., et al. Tumor entrained neutrophils inhibit seeding in the premetastatic lung. *Cancer Cell.* 2011; 20(3): 300–14.
44. Shaul M.E., Levy L., Sun J., et al. Tumor-associated neutrophils display a distinct N1 profile following TGF β modulation: A transcriptomics analysis of pro- vs. antitumor TANs. *Oncoimmunology.* 2016; 5(11): e1232221. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1232221
45. Skendros P., Mitroulis I., Ritis K. Autophagy in Neutrophils: From Granulopoiesis to Neutrophil Extracellular Traps. *Front Cell Dev Biol.* 2018; 6: 109.
46. Rosales C. Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? *Front Physiol.* 2018; 9: 113. DOI: 10.3389/fphys.2018.00113
47. Uribe-Querol E., Rosales C. Neutrophils in Cancer: Two Sides of the Same Coin. *J Immunol Res.* 2015; 2015: 983698. DOI: 10.1155/2015/983698
48. Sagiv J. Y., Michaeli J., Assi S., et al. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer. *Cell reports.* 2015; 10(4): 562–73. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.12.039
49. Lee W., Ko S.Y., Mohamed M.S., et al. Neutrophils facilitate ovarian cancer premetastatic niche formation in the omentum. *J Exp Med.* 2019; 216(1): 176–94. DOI: 10.1084/jem.20181170
50. Granot Z., Jablonska J. Distinct Functions of Neutrophil in Cancer and Its Regulation. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 701067. DOI: 10.1155/2015/701067
51. Lopez-Lago M.A., Posner S., Thodima V.J., et al. Neutrophil chemokines secreted by tumor cells mount a lung antimetastatic response during renal cell carcinoma progression. *Oncogene.* 2013; 32(14): 1752–60.
52. Hong C.W. Current Understanding in Neutrophil Differentiation and Heterogeneity. *Immune Netw.* 2017; 17(5): 298–306.
53. Liu Y., Yue Hu, Gu F., et al. Phenotypic and clinical characterization of low density neutrophils in patients with advanced lung adenocarcinoma. *Oncotarget.* 2017; 8(53): 90969–78. DOI: 10.18632/oncotarget.18771
54. Carmona-Rivera C., Kaplan M.J. Low-density granulocytes: a distinct class of neutrophils in systemic autoimmunity. *Semin. Immunopathol.* 2013; 35: 455–63. DOI: 10.1007/s00281-013-0375-7
34. Lai Guan Ng. Neutrophil: A mobile fertilizer *J Exp Med.* 2019; 216(1): 4–6. DOI: 10.1084/jem.20182059
35. Mishalian I., Granot Z., Fridlender Z.G. The diversity of circulating neutrophils in cancer. *Immunobiology.* 2017; 222(1): 82–8. DOI: 10.1016/j.imbio.2016.02.001
36. McCracken J.M., Allen L.A.H. Regulation of Human Neutrophil Apoptosis and Lifespan in Health and Disease. *J Cell Death.* 2014; 7: 15–23. DOI: 10.4137/JCD.S11038
37. Je Lin Sieow, Sin Yee Gun, Siew Cheng Wong The Sweet Surrender: How Myeloid Cell Metabolic Plasticity Shapes the Tumor Microenvironment. *Front Cell Dev Biol.* 2018; 6: 168. DOI: 10.3389/fcell.2018.00168
38. Sionov R.V., Fridlender Z.G., Granot Z. The multifaceted roles neutrophils play in the tumor microenvironment. *Cancer Microenviron.* 2014; 8(3):125–58.
39. Coffelt S.B., Wellenstein M.D., de Visser K.E. Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nature Reviews Cancer.* 2016; 16(7): 431. DOI: 10.1038/nrc.2016.52/
40. Swierczak A., Mouchemore K.A., Hamilton J.A., Anderson R.L. Neutrophils: important contributors to tumor progression and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2015; 34(4): 735–51. DOI: 10.1007/s10555-015-9594-9
41. Kurashige M., Kohara M., Ohshima K., et al. Origin of cancer-associated fibroblasts and tumor-associated macrophages in humans after sex-mismatched bone marrow transplantation. *Commun Biol.* 2018; 1: 131.
42. Sawanobori Y., Ueha S., Kurachi M., et al. Chemokine-mediated rapid turnover of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. *Blood.* 2008; 111(12): 5457–66. DOI: 10.1182/blood-2008-01-136895
43. Granot Z., Henke E., Comen E.A., et al. Tumor entrained neutrophils inhibit seeding in the premetastatic lung. *Cancer Cell.* 2011; 20(3): 300–14.
44. Shaul M.E., Levy L., Sun J., et al. Tumor-associated neutrophils display a distinct N1 profile following TGF β modulation: A transcriptomics analysis of pro- vs. antitumor TANs. *Oncoimmunology.* 2016; 5(11): e1232221. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1232221
45. Skendros P., Mitroulis I., Ritis K. Autophagy in Neutrophils: From Granulopoiesis to Neutrophil Extracellular Traps. *Front Cell Dev Biol.* 2018; 6: 109.
46. Rosales C. Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? *Front Physiol.* 2018; 9: 113. DOI: 10.3389/fphys.2018.00113
47. Uribe-Querol E., Rosales C. Neutrophils in Cancer: Two Sides of the Same Coin. *J Immunol Res.* 2015; 2015: 983698. DOI: 10.1155/2015/983698
48. Sagiv J. Y., Michaeli J., Assi S., et al. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer. *Cell reports.* 2015; 10(4): 562–73. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.12.039
49. Lee W., Ko S.Y., Mohamed M.S., et al. Neutrophils facilitate ovarian cancer premetastatic niche formation in the omentum. *J Exp Med.* 2019; 216(1): 176–94. DOI: 10.1084/jem.20181170
50. Granot Z., Jablonska J. Distinct Functions of Neutrophil in Cancer and Its Regulation. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 701067. DOI: 10.1155/2015/701067
51. Lopez-Lago M.A., Posner S., Thodima V.J., et al. Neutrophil chemokines secreted by tumor cells mount a lung antimetastatic response during renal cell carcinoma progression. *Oncogene.* 2013; 32(14): 1752–60.
52. Hong C.W. Current Understanding in Neutrophil Differentiation and Heterogeneity. *Immune Netw.* 2017; 17(5): 298–306.
53. Liu Y., Yue Hu, Gu F., et al. Phenotypic and clinical characterization of low density neutrophils in patients with advanced lung adenocarcinoma. *Oncotarget.* 2017; 8(53): 90969–78. DOI: 10.18632/oncotarget.18771
54. Carmona-Rivera C., Kaplan M.J. Low-density granulocytes: a distinct class of neutrophils in systemic autoimmunity. *Semin. Immunopathol.* 2013; 35: 455–63. DOI: 10.1007/s00281-013-0375-7

55. Wright H. L., Makki F. A., Moots R. J., et al. Low-density granulocytes: functionally distinct, immature neutrophils in rheumatoid arthritis with altered properties and defective TNF signaling. *Journal of leukocyte biology*. 2017; 101(2): 599–611. DOI: 10.1189/jlb.5A0116-022R.
56. Hallett M. B. *The Neutrophil: Cellular Biochemistry and Physiology*. CRC Press; 2017.
57. Erpenbeck L., Schön M.P. Neutrophil extracellular traps: protagonists of cancer progression? *Oncogene*. 2017; 36(18): 2483. DOI: 10.1038/onc.2016.406
58. Porta C., Sica A., Riboldi E. Tumor-associated myeloid cells: new understandings on their metabolic regulation and their influence in cancer immunotherapy. *FEBS J*. 2018; 285(4): 717–33. DOI: 10.1111/febs.14288
59. Khadge S., Sharp J.G., McGuire T.R., et al. Immune regulation and anti-cancer activity by lipid inflammatory mediators. *Int Immunopharmacol*. 2018; 65: 580–92. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.10.026

Информация об авторах

Андрюков Борис Георгиевич*, заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, профессор департамента фундаментальных наук Школы биомедицины Дальневосточного федерального университета,
e-mail: andrukov_bg@mail.ru, тел.: +7(924)230-46-47;
690087, г. Владивосток, ул. Сельская, д. 1.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4456-808X>

Богданова Валерия Дмитриевна, специалитет «Медицинская биохимия», Школа биомедицины, Дальневосточный федеральный университет,
e-mail: ha-lera@mail.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5580-5442>

Ляпун Ирина Николаевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова,
e-mail: irina-lyapun@list.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 03.04.2019
Принята к печати: 14.05.2019

55. Wright H. L., Makki F. A., Moots R. J., et al. Low-density granulocytes: functionally distinct, immature neutrophils in rheumatoid arthritis with altered properties and defective TNF signaling. *Journal of leukocyte biology*. 2017; 101(2): 599–611. DOI: 10.1189/jlb.5A0116-022R.
56. Hallett M. B. *The Neutrophil: Cellular Biochemistry and Physiology*. CRC Press; 2017.
57. Erpenbeck L., Schön M.P. Neutrophil extracellular traps: protagonists of cancer progression? *Oncogene*. 2017; 36(18): 2483. DOI: 10.1038/onc.2016.406
58. Porta C., Sica A., Riboldi E. Tumor-associated myeloid cells: new understandings on their metabolic regulation and their influence in cancer immunotherapy. *FEBS J*. 2018; 285(4): 717–33. DOI: 10.1111/febs.14288
59. Khadge S., Sharp J.G., McGuire T.R., et al. Immune regulation and anti-cancer activity by lipid inflammatory mediators. *Int Immunopharmacol*. 2018; 65: 580–92. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.10.026

Information about the authors

Boris G. Andriukov*, Honoured Doctor of the Russian Federation, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology; Prof., Department of Fundamental Sciences, School of Biomedicine, Far Eastern Federal University,
e-mail: andrukov_bg@mail.ru, tel.: +7(924)230-46-47;
690087, Vladivostok, Selskaya str., 1.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4456-808X>

Valeriya D. Bogdanova, Master's Degree Student in Medical Biochemistry, School of Biomedicine, Far Eastern Federal University,
e-mail: ha-lera@mail.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5580-5442>

Irina N. Lyapun, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, G.P. Somov Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology,
e-mail: irina-lyapun@list.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>

* Corresponding author

Received 03 Apr 2019
Accepted 14 May 2019

АЛГОРИТМЫ РАЗРЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМ ПРЕДТРАНСФУЗИОННОГО ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Пашкова И. А.^{1,2}

¹ ГБУЗ «Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края, 350086, Краснодар, Россия

² ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 350063, Краснодар, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Скрининг и идентификация антиэритроцитарных аллоиммунных антител у реципиентов необходимы при переливании компонентов крови и являются важным элементом тестирования перед проведением гемотрансфузии.

Цель работы — составить алгоритмы предтрансфузионного иммуногематологического тестирования.

Основные сведения. Данные исследования позволяют предупредить развитие посттрансфузионных реакций и осложнений. Присутствие в исследуемой крови аллоантител разных специфичностей, а также аутоантител может затруднить предтрансфузионное тестирование и потребовать применения дополнительных методов (адсорбция, элюция и др.) исследования. Автором предложена эффективная система алгоритмов проведения иммуногематологических исследований, которая будет способствовать выявлению больных группы риска развития иммунных посттрансфузионных реакций и осложнений и обеспечит выполнение индивидуального подбора совместимых донорских гемотрансфузионных сред.

Ключевые слова: предтрансфузионное тестирование реципиентов, аллоантитела, аутоантитела, скрининг и идентификация антител, прямой антиглобулиновый тест, непрямой антиглобулиновый тест

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Пашкова И.А. Алгоритмы разрешения проблем предтрансфузионного иммуногематологического тестирования. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2):222–233. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-222-233>

ALGORITHMS FOR SOLVING PROBLEMS OF PRE-TRANSFUSION IMMUNOHEMATOLOGICAL TESTING

Pashkova I. A.^{1,2}

¹ Research Institute — Regional Clinical Hospital 1 n.a. Prof. S.V. Ochapovsky, Ministry of Healthcare of Krasnodar Krai, 350086, Krasnodar, Russian Federation

² Kuban State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 350063, Krasnodar, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Screening and identification of anti-erythrocyte alloimmune antibodies in recipients is an important and necessary step in their testing before blood transfusion.

Aim. To formulate algorithms that could facilitate the process of pre-transfusion immunohematological testing.

General findings. Such a testing allows the development of post-transfusion reactions and complications to be avoided. The presence of alloantibodies of various specificities and autoantibodies in the test blood may complicate pre-transfusion testing and require the use of additional methods (adsorption, elution, etc.). The author has proposed an effective system of algorithms for conducting immunohematological studies, which can be used to identify patients at risk of developing immune post-transfusion complications and ensure an individual selection of compatible donor blood-transfusion products.

Keywords: pre-transfusion testing, alloantibodies, autoantibodies, screening and identification of antibodies, direct antiglobulin test, indirect antiglobulin test

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Pashkova I.A. Algorithms for solving problems of pre-transfusion immunohematological testing. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(2):222–233 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-222-233>

Введение

При проведении трансфузий эритроцитсодержащих компонентов могут возникать проблемы, обусловленные присутствием в крови реципиентов и доноров аллоиммунных антиэритроцитарных антител (антител, синтезируемых при попадании в кровь данного лица внешнего чужеродного эритроцитарного антигена, т.е. антигена, которого нет на эритроцитах этого человека) и/или аутоиммунных антиэритроцитарных антител (антител, синтезируемых при ряде заболеваний против собственных антигенов эритроцитов данного человека) [1–3]. Аллоантитела нередко являются клинически значимыми, так как могут вызывать гемолиз донорских эритроцитов. При этом аллоантитела разных специфичностей имеют разные свойства, что требует дифференцированного подхода к их детекции. Аутоантитела, вызывая панагглютинацию, могут затруднять определение группы крови и ре-

зус-фенотипа, маскировать присутствие аллоантител. Предтрансфузионные скрининг и идентификация антиэритроцитарных аллоантител, их дифференцировка от аутоантител и на этой основе подбор совместимой донорской крови необходимы для профилактики посттрансфузионных реакций и осложнений [4–6]. Автором совместно с сотрудниками были проведены исследования антител у более чем 200 тысяч больных и более чем 100 тысяч доноров. Результаты исследований опубликованы ранее [7, 8].

Цель работы — составить алгоритмы предтрансфузионного иммуногематологического тестирования. Разработанные алгоритмы будут способствовать повышению качества иммуносерологического обследования и снижению риска развития иммунных посттрансфузионных реакций и осложнений после гемотрансфузий.

Скрининг и идентификация аллоиммунных антиэритроцитарных антител

Клинически значимыми антиэритроцитарными аллоантителами являются такие антитела, которые приводят к уменьшению срока жизни донорских эритроцитов или могут быть причиной гемолитического трансфузионного осложнения (ГТО). Некоторые аллоантитела вызывают разрушение несовместимых эритроцитов в течение нескольких часов или минут (острый гемолиз), другие снижают продолжительность жизни эритроцитов на несколько дней (отсроченный гемолиз), третьи не влияют на срок жизни перелитых эритроцитов. То же касается и антител при гемолитической болезни плода и новорожденного (ГБН): одни могут стать причиной ГБН, другие дают положительный прямой антиглобулиновый тест (ПАГТ) у плода при отсутствии клинической картины, а третьи вообще не вызывают этого патологического состояния. Важнейшими трансфузионно опасными антигенами эритроцитов являются антигены систем ABO, Rh (прежде всего D и c), а также антиген K системы Kell. К антигенам некоторых других антигенных систем эритроцитов (Kidd, Duffy и др.) также могут вырабатываться клинически значимые антитела [9, 10].

При поиске эритроцитарных антител необходимо учитывать их принадлежность к классу и субклассу иммуноглобулинов. Антиэритроцитарные антитела могут быть иммуноглобулинами классов IgM, IgG, IgA и субклассами IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 [2, 11, 12]. Важно учитывать также различия физических и химических свойств разных антител [9, 13–15]. К таким показателям относится температурный оптимум реагирования. Некоторые антитела можно обнаружить при помощи антиглобулиновых сывороток в непрямом антиглобулиновом тесте (НАГТ) разной модификации, другие выявляются лишь на холоде в реакции солевой агглютинации. Существуют антитела, которые становятся биологически активными только в кислой среде или же после добавления к ним свежей сыворотки, содержащей комплемент. Некоторые антитела можно обнаружить после обработки эритроцитов ферментами (папаином, бромелином и др.) или в присутствии раствора низкой ионной силы (РНИС-LISS (low ionic strength solution)).

При определении аллоантител должен быть выполнен ряд требований:

1. Требования к образцу крови при скрининге антител

А. Образец крови должен быть взят не более чем за 2 дня до исследования и храниться при температуре +4...+8 °С.

Б. Тест может быть выполнен как с сывороткой, так и с плазмой, но при использовании плазмы существует опасность не выявления слабоактивных антител из-за разведения стабилизирующим раствором.

В. Гемолизированная и хилезная кровь не используются.

2. Требования к проведению скрининга антител

Методы, применяемые для скрининга антител, должны выявлять все клинически значимые антитела и включать:

А. для выявления неполных антител:

- не прямой антиглобулиновый тест в гелевом методе (инкубация при 37 °С) или его модификацию аналогичной чувствительности (РНИС-LISS);

- желатиновый метод (применяется 10 % желатин; инкубация при 48 °С) с микроскопированием результата;

- полиглюкиновый экспресс-метод с 33 % полиглюкином в пробирках без подогрева.

Б. для выявления полных антител:

- метод агглютинации в солевой среде.

Для скрининга должна применяться панель стандартных эритроцитов, включающая не менее 3 видов стандартных эритроцитов, содержащих все трансфузионно опасные антигены в гомозиготном состоянии.

3. Требования к проведению идентификации аллоиммунных антител

Для установления специфичности антител, выявленных при первичном скрининге, необходимо использовать панель стандартных эритроцитов, включающую не менее 11 образцов. Применяются те же методы, что и для скрининга антител.

Если в анамнезе у больного уже обнаруживались аллоиммунные антитела какой-либо специфичности, каждый раз перед предполагаемой трансфузией необходимо перепроверять специфичность, чтобы исключить присутствие антител, которые могли выработаться дополнительно.

Для идентификации антиэритроцитарных антител необходим выбор адекватных методов исследования с учетом различия свойств разных антител. Например, антитела системы Duffy, Kidd не выявляются методом агглютинации в солевой среде, в полиглюкиновом и желатиновом тестах, но хорошо определяются в непрямом антиглобулиновом тесте в геле [11, 13]. Современные данные об эффективности различных методов в исследовании антител различных специфичностей представлены в таблице 1.

Основным тестом, позволяющим обнаружить все клинически значимые аллоантитела в исследуемой сыворотке, является не прямой антиглобулиновый тест, в том числе в гелевом методе.

Для скрининга аллоантител в непрямом антиглобулиновом тесте могут быть использованы гелевые карты ID Card Liss/Coombs, ID Card IgG фирмы GRIFOLS (Испания). Для первичного скрининга антител могут применяться стандартные эритроциты Seraskan Diana GRIFOLS I+II+III+IV (фенотипы: CCD_{ee}; ccD_{EE}; ccdee; CwCD_{ee}). Идентификацию антител можно про-

Таблица 1. Методы выявления антител**Table 1.** Antibody detection methods

Специфичность антител <i>Antibody specificity</i>	Ассоциированы с... <i>Associated with...</i>		Солевая среда <i>Salt media</i>	Конгломинация с желатином <i>Conglutination with gelatin</i>	АГС*** Гелевый тест <i>AGS*** Gel test</i>
	ГТР*	ГБН**			
Анти-D,C,c,E,e <i>Anti-D,C,c,E,e</i>	Да Yes	Да Yes	Маловероятно Highly unlikely	Да Yes	Да Yes
Анти-M <i>Anti-M</i>	Мало Small	Мало Small	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Анти-N <i>Anti-N</i>	Нет No	Редко Seldom	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Анти-S,s,U <i>Anti-S,s,U</i>	Да Yes	Да Yes	Маловероятно Highly unlikely	Нет/иногда No/sometimes	Да Yes
Анти-Lea <i>Anti-Lea</i>	Нет No	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Анти-Leb <i>Anti-Leb</i>	Нет No	Редко Seldom			
Анти-Lua <i>Anti-Lua</i>	Нет No	Нет No	Да Yes	Нет/иногда No/sometimes	Нет/иногда No/sometimes
Анти-Lub <i>Anti-Lub</i>	Да Yes	Редко Seldom	Нет No	Нет/иногда No/sometimes	Да Yes
Анти-K, k Кра, Kpb, Jsa, Jsb <i>Anti-K, k Кра, Kpb, Jsa, Jsb</i>	Да Yes	Да Yes	Маловероятно Highly unlikely	Да Yes	Да Yes
Анти-Fya, Fab, <i>Anti-Fya, Fab,</i>	Да Yes	Да Yes	Нет No	Нет No	Да Yes
Анти-Jka, Jkb <i>Anti-Jka, Jkb</i>	Да Yes	Да Yes	Нет No	Нет No	Да Yes
Анти-Dia, Dib, <i>Anti-Dia, Dib,</i>	Да Yes	Да Yes	Нет No	Нет/иногда No/sometimes	Да Yes
Анти-Yta <i>Anti-Yta</i>	Нет No	Нет No	Нет No	Нет данных No data	Да Yes
Анти-Doa <i>Anti-Doa</i>	Да Yes	Нет No	Нет No	Нет данных No data	Да Yes
Анти-Coa <i>Anti-Coa</i>	Да Yes	Да Yes	Нет No	Нет данных No/sometimes	Да Yes
Анти-Xga, Ytb, <i>Anti-Xga, Ytb, Dob, Cob, Sc1, Sc2</i>	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет No	Нет данных No data	Да Yes

Примечание. * ГТР — гемолитические трансфузионные реакции. ** ГБН — гемолитическая болезнь новорожденных. *** АГС — антиглобулиновая сыворотка.

Note. * HTR — hemolytic transfusion reactions. ** HDN — hemolytic disease of the newborn. *** AGS — antiglobulin serum.

водить в том числе в гелевых картах Liss/Coombs, ID Card IgG с использованием 15 образцов стандартных эритроцитов (фирма GRIFOLS), фенотипированных по 36 антигенам.

Аутоконтроль

Аутоконтроль — тест на взаимодействие сыворотки и эритроцитов исследуемой крови. При скрининге и идентификации аллоантител аутоконтроль необходимо проводить во всех случаях. В норме сыворотка крови не может вызывать агглютинацию собственных эритроцитов. Отрицательный аутоконтроль при определении аллоантител подтверждает специфичность реакций исследуемой сыворотки с тестовыми эритроцитами. Положительный аутоконтроль доказывает

присутствие в тестируемой крови аутоантител. В этом случае следует проверить, есть ли в крови кроме аутоантител также и аллоантитела, т.е. провести дифференцировку (иногда аутоконтроль позволяет сделать предварительные предположения по этому вопросу путем сравнения реакции агглютинации с аутологичными и стандартными эритроцитами).

Прямой антиглобулиновый тест

Прямой антиглобулиновый тест, в том числе в геле, проводят для определения фиксированных на поверхности эритроцитов антител и/или компонентов компонента. Положительный результат ПАГТ бывает при недавно проведенных трансфузиях эритроцитсодержащих компонентов, трансплантации гемопоэтических

стволовых клеток или солидных органов, при гемолитической болезни плода и новорожденного (вследствие присутствия у матери аллоантител IgG класса, проходящих через плаценту), наличии антител, направленных к лекарственным препаратам, при некоторых аутоиммунных заболеваниях и др. Наиболее часто как самостоятельное исследование ПАГТ применяется для выявления неполных аутоантител на эритроцитах при аутоиммунных гемолитических анемиях.

Наиболее частые ошибки при скрининге аллоантител

1. Применение низкокучувствительного метода исследования.
2. Стандартные эритроциты, выбранные для исследования, не содержат необходимый антиген.
3. Неправильное соотношение сыворотки и тестовых эритроцитов (при слишком высокой или слишком низкой концентрации стандартных эритроцитов происходят слабые реакции).
4. Исследуемая сыворотка не добавлена в пробу.
5. Неправильное хранение стандартных эритроцитов и исследуемой сыворотки.
6. Низкое качество антиглобулиновой сыворотки (в частности, реактивы теряют активность вследствие бактериальной контаминации или контаминации сывороткой человека).
7. Некоторые образцы антител можно детектировать только в присутствии активного комплемента.

Алгоритм действий врача по профилактике ошибок

1. Уточнить диагноз, трансфузионный и акушерский анамнез.
2. Устранить возможные технические ошибки:
 - а) проверить качество реагентов: срок годности, наличие гемолиза стандартных эритроцитов, карты Кумбса (не высох ли гель);
 - б) центрифугирование выполнять строго по инструкции;
 - в) соблюдать регламентированное соотношение сыворотки и тест-эритроцитов.
3. В сомнительных случаях изменить условия проведения реакции агглютинации (в том числе с целью воздействия на возможные неспецифические факторы):
 - а) при исследовании антител низкой активности (если реакция была на 1+, 2+) использовать избыток антител по отношению к эритроцитам;
 - б) увеличить время инкубации;
 - в) повторить скрининг антител в непрямом антиглобулиновом тесте, если ранее применялся другой метод;
 - г) повысить уровень экспрессии антигенов стандартных эритроцитов, проведя энзимирование тестовых эритроцитов растворами протеолитических ферментов (бромелин, папаин), РНИС (необходимо учитывать, что некоторые эритроцитарные антигены при об-

работке ферментом могут быть разрушены, например Fy^a, Fy^b, S, вследствие чего возможен ложноотрицательный результат);

д) учитывать возможность появления комплементсвязывающих антител (например к системам Rh, Duffy, U, Kidd); если ранее скрининг и идентификацию проводили в гелевых картах с Anti-IgG, провести повторное исследование в картах Anti-IgG + комплемент (DG Gel LISS/Coombs).

Алгоритм действий врача при идентификации аллоантител в сложных случаях

I. Алгоритм при наличии в исследуемой крови только антиэритроцитарных аллоантител (ПАГТ и аутоконтроль — отрицательные).

Сложные проблемы при идентификации аллоантител могут возникать, если в сыворотке крови содержатся антитела разных специфичностей (две или более разновидности антител) или если имеет место эффект «дозы» антигена (как отмечалось ранее, некоторые виды антител, например антитела к антигенам систем Kidd, Duffy, MNS, вызывают слабую реакцию при гетерозиготности тест-эритроцитов по данным антигенам).

В связи с этим врач должен помнить ряд правил:

1. У людей не вырабатываются аллоантитела против имеющихся у них антигенов.
2. В сложных случаях следует руководствоваться «правилом трех» для подтверждения специфичности антител: сыворотка больного должна давать положительную реакцию с 3 образцами стандартных эритроцитов, содержащих один и тот же антиген, и отрицательную с 3 образцами тестовых эритроцитов, не имеющих этого антигена. Если в панели недостаточно образцов стандартных эритроцитов для выполнения правила, могут быть использованы дополнительные образцы тестовых эритроцитов из другой панели.
3. Сила реакции может быть обусловлена эффектом «дозы»: если тестовые эритроциты какого-либо образца панели имеют данный антиген в гомозиготном состоянии, может наблюдаться сильная реакция агглютинации; если тестовые эритроциты этого образца панели гетерозиготны по данному антигену, реакция может быть слабой или даже отрицательной (системы Rh, Duffy, MNS, Kidd). Следует проверить по инструкции, имеющейся в панели тестовых эритроцитов, гомозиготность или гетерозиготность нужных для соответствующего исследования антигенов.
4. Фенотипирование, помогающее подтвердить специфичность аллоантител (см. правило 1), может быть проведено, если больному не переливались донорские эритроциты в течение срока жизни эритроцитов перед исследованием, т. к. донорские эритроциты могут дать ложно положительный или ложно отрицательный результат фенотипирования [16].

Для идентификации антител разных специфичностей можно выполнить несколько процедур.

1. Выбрать дополнительные образцы стандартных эритроцитов из других идентификационных панелей. Каждый образец должен быть положительным для одного из вариантов антител и отрицательным для остальных вариантов антител.
2. Энзимирование стандартных эритроцитов протеолитическими ферментами (фицин, бромелин, папаин) для усиления или уничтожения определенных групповых антигенов крови. Ферменты удаляют сialовую кислоту из мембраны эритроцитов, «разрушая» некоторые антигены и «усиливая» другие (разрушают антигены систем MNSs, Duffy, усиливают антигены систем Rh, Kidd, Lewis, I и P).
3. Химическая обработка тестовых эритроцитов сульфгидрильными реагентами, ZZAP (комбинированный реагент, содержащий дитиотреитол, папаин, активированный цистеином). Сульфгидрильные реагенты (дитиотреитол (DTT), 2-меркаптоэтанол (2-ME), унитиол) чаще используются для дифференцировки антител классов IgM и IgG. Используя их, необходимо помнить, что DTT денатурирует антигены системы Kell. ZZAP хорошо подходит для адсорбционных методов исследования аутоантител.

При невозможности идентификации аллоантител необходимо провести прямой антиглобулиновый тест и аутоконтроль. Положительный ПАГТ свидетельствует о наличии фиксированных на эритроцитах аутоантител, положительный аутоконтроль свидетельствует о наличии аутоантител в сыворотке. Аутоантитела могут быть как специфическими, так и неспецифическими.

II. Алгоритм действий при положительном прямом антиглобулиновом тесте (НАГТ и аутоконтроль — положительные или отрицательные)

Положительный прямой антиглобулиновый тест (реакция эритроцитов исследуемой крови с антиглобулиновыми сыворотками) может предоставить ценную информацию о реципиенте. ПАГТ может стать положительным по целому ряду причин:

- А. Если реципиенту были перелиты несовместимые донорские эритроциты. При развитии аллоиммунизации и гемолитической трансфузионной реакции (посттрансфузионного осложнения) у реципиента в первые часы (дни) после гемотрансфузии НАГТ может оставаться отрицательным, так как антител еще мало и они все фиксируются на донорских эритроцитах, не оставаясь в плазме, вследствие чего ПАГТ становится положительным раньше, чем НАГТ.
- Б. При трансплантации костного мозга или солидных органов лимфоциты, передающиеся с трансплантатом, могут вырабатывать антитела, направленные против антигенов системы АВО и других антигенных систем эритроцитов реципиента (чаще всего это бывает при несовместимых по АВО трансплантациях). Фиксация антител на эритроцитах реципиента может

сопровождаться появлением положительного ПАГТ, а иногда даже приводит к гемолитическому кризу.

В. При аутоиммунной гемолитической анемии. Если у реципиента в анамнезе нет трансфузий эритроцитосодержащих компонентов, у него могут быть аутоантитела, фиксированные на собственных эритроцитах. Это будет влиять на интерпретацию результатов серологического тестирования реципиента и проб на совместимость. Аутоантитела могут «маскировать» клинически значимые аллоантитела, поэтому важно различать ауто- и аллоантитела [1, 2, 17]. В этом, в частности, могут помочь лабораторные данные о признаках гемолиза и анамнестические сведения о заболеваниях, при которых возможно развитие аутоиммунных процессов: системная красная волчанка, антикардиолипный синдром, лимфопролиферативные заболевания (хронический лимфоцитарный лейкоз, лимфома и др.), злокачественные новообразования.

Г. В сыворотке исследуемой крови могут содержаться иммунные комплексы различных специфичностей, не имеющие отношения к эритроцитарным антигенам, которые могут активировать компоненты комплемента, неспецифически адсорбируемые на эритроциты. Но могут быть и комплементсвязывающие антитела, специфичные по отношению к какому-либо эритроцитарному антигену.

Д. У реципиентов, принимающих лекарственные препараты, возможно появление ассоциированного с приемом лекарств положительного ПАГТ, в основе чего лежат 4 механизма: адсорбция лекарственных препаратов (пенициллины), образование иммунного комплекса (хинидин, тетрациклин, хлорпромазин, р-аминосалициловая кислота и др.), образование лекарственных аутоантител (метилдопа, леводопа, прокаиамид, диклофенак, интерферон и др.) и неспецифическая адсорбция (цефалотин и др.).

С учетом этих факторов, целесообразным представляется следующий алгоритм действий при положительном ПАГТ:

1. Сбор анамнестических данных, которые помогут определить, какие дальнейшие тесты необходимы

- А. Переливались ли больному компоненты крови в последнее время и когда именно?
- Б. Выполнялась ли больному трансплантация костного мозга или солидных органов?
- В. Есть ли у больного признаки гемолиза (ретикулоцитоз, гемоглобинемия, гемоглобинурия, повышенные концентрации непрямого билирубина, лактатдегидрогеназы)?
- Г. Принимает ли больной лекарственные препараты: хинидин, прокаинамид, α-метилдопа, антибиотики (пенициллин, цефалоспорины), антилимфоцитарный или антимоноцитарный иммуноглобулины и др.?

2. Серологическое тестирование с целью определения класса иммуноглобулинов или компонентов комплемента (карты DC-Screening I: IgG, IgM, IgA, C3c, C3d, ctl)

Таблица 2. Результаты использования антиглобулиновых реагентов
Table 2. Results of applying antiglobulin reagents

Прямой антиглобулиновый тест при: <i>Direct antiglobulin test for:</i>	Полиспецифический <i>Multispecific</i>		Моноспецифический <i>Monospecific</i>								
	анти- IgG+C3 <i>Anti-IgG+C3</i>	анти- C3+C4 <i>Anti-C3+C4</i>	анти- IgG <i>Anti-IgG</i>	анти- IgM <i>Anti-IgM</i>	анти- IgA <i>Anti-IgA</i>	анти- C3 <i>Anti-C3b</i>	анти- C3b <i>Anti-C3b</i>	анти- C3d <i>Anti-C3d</i>	анти- C4 <i>Anti-C4</i>	анти- C4b <i>Anti-C4b</i>	анти- C4d <i>Anti-C4d</i>
ГБН: при АТ к АВО при анти-Ika при анти-Rh и др. <i>HDN: ABO antibodies</i> <i>anti-Ika</i> <i>anti-Rh and others</i>	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	+++	+++	0/+	0	0	+++	0	+++	0	0	0
	++++	0	++++	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	+++	+++	0/+	0	0	+++	0	+++	0	0	0
	++++	0	++++	0	0	0	0	0	0	0	0
ПТР: связывающие комплемент; все другие (Rh) <i>PTR: bound complement;</i> <i>others (Rh)</i>	+++	+++	0/+	+++	+	+++	0	+++	0	0	0
	+++	0	+++	+		0	0	0	0	0	0
	+++	+++	0/+	+++	+	+++	0	+++	0	0	0
	+++	0	+++	+		0	0	0	0	0	0
Тепловая аутоиммунная гемолитическая анемия: <i>Warm antibody hemolytic anemia:</i>											
20 % больных	++++	++++	0	0/+	0/+	++++	0	++++	++	0	++
50 % больных	++++	++++	+++	0/+	0/+	++++	0	++++	++	0	++
30 % больных	++++	0	++++	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>20 % of patients</i>	++++	++++	0	0/+	0/+	++++	0	++++	++	0	++
<i>50 % of patients</i>	++++	++++	+++	0/+	0/+	++++	0	++++	++	0	++
<i>30 % of patients</i>	++++	0	++++	0	0	0	0	0	0	0	0
Синдром холодовых агглютининов <i>Cold agglutinin disease</i>	+++	+++	0	++	0	+++	0	+++	++	0	++
	+++	+++	0	++	0	+++	0	+++	++	0	++
Пароксизмальная холодовая гемоглобинурия <i>Paroxysmal cold hemoglobinuria</i>	+++	+++	+	0	0	+++	0	+++	++	0	++
	+++	+++	+	0	0	+++		+++	++	0	++
Аутоиммунная гемолитическая анемия смешанного типа <i>Mixed autoimmune hemolytic anemia</i>	+++	+++	++	++	0	+++	0	+++	++	0	++
	+++	+++	++	++	0	+++	0	+++	++	0	++
Индукцированные лекарственными препаратами: <i>Drug induced:</i>											
альдометиловые	+++	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0
пенициллиновые	+++	0	+++	+	0	0	0	0	0	0	0
группа иммунных комплексов	+++	+++	0/+	0/+	0	+++	0	+++	++	0	++
<i>aldomethyl</i>	+++	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>penicillin</i>	+++	0	+++	+	0	0	0	0	0	0	0
<i>group of immune complexes</i>	+++	+++	0/+	0/+	0	+++	0	+++	++	0	++

Примечание. ГБН — гемолитическая болезнь новорожденных, ПТР — посттрансфузионные реакции.

Note. HDN — hemolytic disease of the newborn, PTR — post-transfusion reactions.

В зависимости от конкретной причины (патологического состояния) ПАГТ может быть положительным с одними антиглобулиновыми реагентами и отрицательным с другими, что можно использовать для дифференциальной диагностики. В таблице 2 представлены результаты, которые можно получить при использовании моно- и полиспецифических антиглобулиновых реактивов [2, 9].

3. Применение метода элюции для скрининга антител при положительном ПАГТ

Фиксированные на эритроцитах антитела при элюции высвобождаются с поверхности сенсibilizиро-

ванных эритроцитов в функционально активной форме и поэтому могут быть идентифицированы. Принцип элюции — разрыв нековалентных связей, удерживающих комплексы «антиген—антитело» на поверхности эритроцитов. Это может быть достигнуто нагреванием, замораживанием-оттаиванием, использованием кислот. Скрининг и идентификацию антител проводят с элюатом. Можно увеличить реактивность элюата, тестируя его с энзимированными эритроцитами скрининговой или идентификационной панели (но следует помнить, что некоторые антигены эритроцитов разрушаются ферментами).

Если причиной положительного ПАГТ является ГТР или ГБН, то в элюате обычно удается детектировать специфические антитела, их же обнаруживают в сыворотке реципиента или в сыворотке крови матери (иногда реакция в НАГТ может быть слабой).

Если элюат реагирует со всеми тестовыми эритроцитами, вероятной причиной этого являются аутоантитела.

В случае положительного ПАГТ, если в сыворотке не обнаружено аллоантител (НАГТ отрицательный) и больному не проводились трансфузии эритроцитсодержащих компонентов в течение последних 2 месяцев, можно сделать вывод о присутствии только аутоантител. Дальнейшие исследования этих аутоантител проводить не нужно.

III. Алгоритм действий при положительном аутоконтроле (НАГТ и ПАГТ — положительные или отрицательные)

Положительный аутоконтроль позволяет отличить аутоантитела от специфических аллоантител. Если проба проводится при комнатной или более низкой температурах, положительный результат позволяет предположить присутствие в исследуемой крови холодных аутоантител, которые, вызывая при рутинных исследованиях панагглютинацию, могут приводить к ошибочным заключениям о группе системы АВО и резус-фенотипах, а также иногда маскировать клинически значимые антитела (IgG). Тепловые аутоантитела активны при более высокой температуре. Присутствие в сыворотке тепловых аутоантител может затруднить детекцию аллоантител и интерпретацию проб на совместимость.

При положительном аутоконтроле для дальнейшего исследования на возможное наличие аллоантител необходимо удалить или снизить активность неспецифических аутоантител в исследуемой сыворотке. С этой целью применяются различные методы адсорбции.

Необходимо прежде всего выяснить трансфузионный анамнез реципиента:

1. При отсутствии трансфузий эритроцитсодержащих компонентов в анамнезе и наличии холодных аутоантител для выявления аллоантител можно использовать следующие методики.

- процедура предварительного нагревания, когда тестируемые сыворотки и эритроциты инкубируются при температуре 30–37 °C перед их смешиванием;
- использование моноспецифической АГС с анти-IgG антителами вместо полиспецифической антиглобулиновой сыворотки;
- холодовая аутоадсорбция для удаления холодных аутоантител;
- нейтрализация холодных антител, для чего могут быть использованы следующие вещества: субстанция PI, субстанция Le^a и Le^b (растворимый антиген, обнаруженный в плазме и слюне), субстанция I (можно найти в грудном молоке), субстанция Sda, полученная из мочи человека или морской свинки.

2. При отсутствии трансфузий эритроцитсодержащих компонентов в анамнезе и наличии тепловых аутоантител для выявления аллоантител следует использовать аутологичную или аллогенную адсорбцию. Методы аутологичной адсорбции предпочтительны для определения аллоантител у больных, которым трансфузии эритроцитсодержащих компонентов не проводились в течение 2–4 месяцев. При аутоадсорбции используются собственные эритроциты больного.

3. Недавние трансфузии эритроцитсодержащих компонентов и наличие тепловых аутоантител.

Аутоадсорбция не проводится, если больному проводились трансфузии эритроцитсодержащих компонентов в течение последних 2 месяцев и в исследуемом образце отмечается положительный ПАГТ, часто с появлением смешанной агглютинации. В этом случае целесообразно провести элюцию, особенно если при идентификации антител получают неопределенные результаты. В этом случае аутоконтроль у больного может быть положительным, а сыворотка может реагировать слабоположительно с большинством тестовых клеток.

Если ПАГТ и НАГТ положительны со всеми тестируемыми клетками, необходимо провести аллоадсорбцию. Методы аллогенной адсорбции предпочтительны для определения аллоантител у больных, которым в течении последних 2–4 месяцев проводились трансфузии эритроцитсодержащих компонентов. При аллоадсорбции, поскольку специфичность аллоантител неизвестна, сыворотка разливается на аликвоты, и для адсорбции разных аликвот используются эритроциты нескольких фенотипов. Если известен фенотип реципиента, число подбираемых эритроцитов для адсорбции можно сократить.

Были разработаны схемы, определяющие алгоритм действий врача-лаборанта, врача-трансфузиолога при возникающих проблемах серологического тестирования (рис. 1, 2).

Пример 1. Больная О., ИБ № 111827, 81 год. Поступила с жалобами на периодические боли в правом подреберье, слабость в течение последней недели, кожный зуд. В течение последнего месяца отмечала желтушность кожных покровов. Цвет кала и мочи, со слов больной, не менялись. Температура тела оставалась нормальной. В анамнезе — холецистэктомия в 1995 г. Гемотрансфузии отрицала. Акушерский анамнез: 10 беременностей, 2 родов, 8 медицинских аборт. Больной в связи с нормоцитарной гипохромной анемией (эритроциты $2,1 \times 10^{12}/л$, гемоглобин 48 г/л, гематокрит 19,4) показано переливание эритроцитсодержащих компонентов крови. Было выполнено стандартное иммуногематологическое обследование больной: определена группа крови по системам АВО и резус, проведен скрининг антител в гелевых картах в НАГТ(I–IV). Сыворотка больной агглютинировала

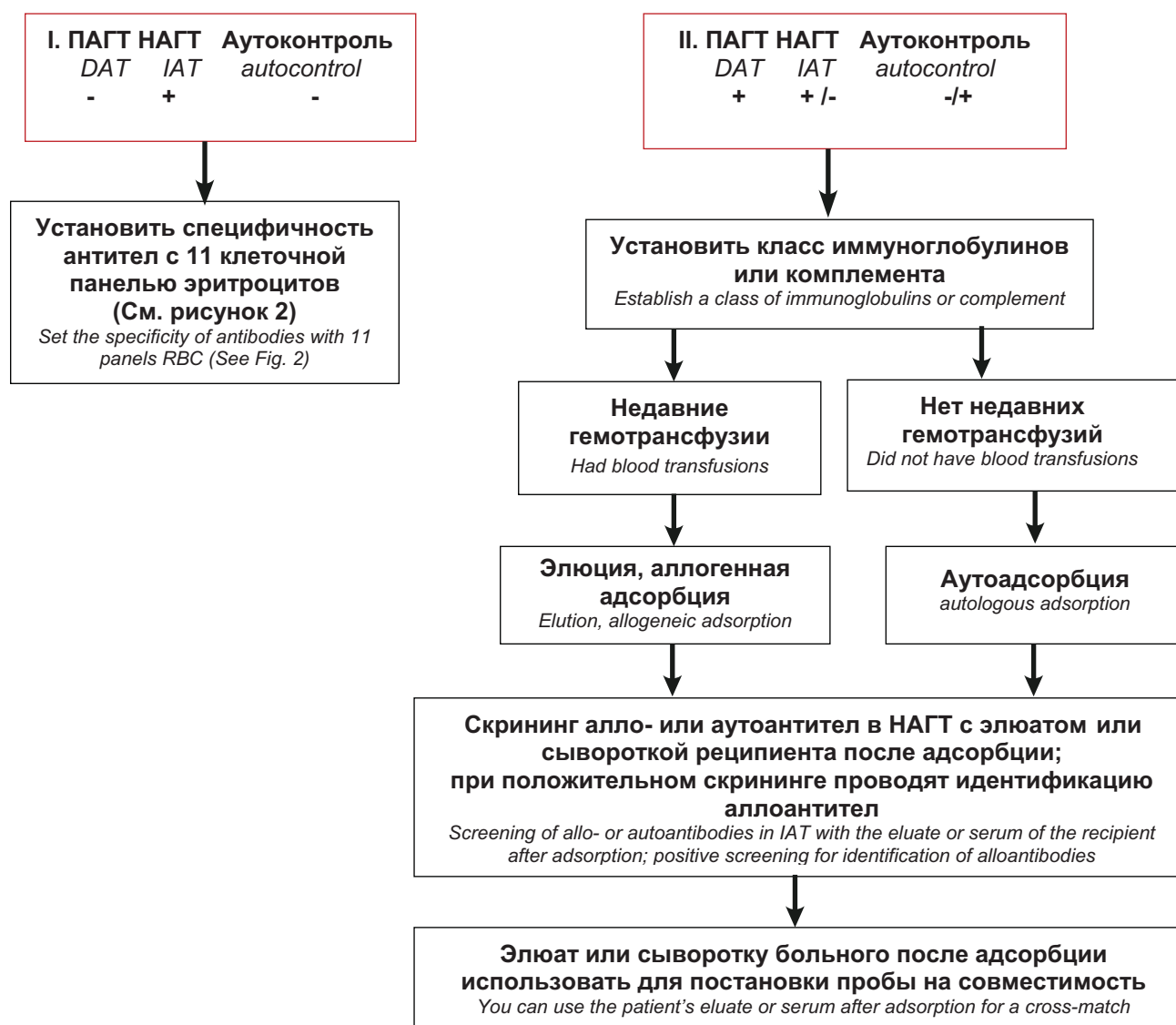


Рисунок 1. Схема алгоритма действий врача при серологическом тестировании антител

Примечание. ПАГТ — прямой антиглобулиновый тест, НАГТ — непрямой антиглобулиновый тест.

Figure 1. The scheme of the algorithm of the doctor's actions in the serological testing of antibodies

Note. DAGT — Direct antiglobulin test, IAGT — indirect antiglobulin test.

все стандартные эритроциты, силу реакции оценили на 3+. Идентифицировать антитела не удалось, так как сыворотка больной агглютинировала все стандартные клетки (I–XV), на 3+. На собственных эритроцитах выявлены фиксированные антитела: ПАГТ 4+, класс иммуноглобулинов IgG. Реакция собственной сыворотки с аутологичными эритроцитами (аутоконтроль) была положительной на 4+. Проведены дополнительные клинико-лабораторные исследования для выявления причины анемии. В анализах крови были идентифицированы признаки гемолиза: ретикулоциты 18,3 % (норма 0,20–2,05), или $312,3 \times 10^9/\text{л}$ (норма 7,00–104,50), гипербилирубинемия (билирубин общий 103,5 мкмоль/л, билирубин непрямой 94,2 мкмоль/л), лактатдегидрогеназа 1212,00 ед/л. Кроме того, был выявлен дефицит витамина B₁₂ — 111,00 пмоль/л

(норма 142,00–725,00). На основании результатов выполненных исследований был установлен диагноз: аутоиммунная гемолитическая анемия с тепловыми антиэритроцитарными антителами класса IgG, B₁₂-дефицитная анемия. Отсутствие в течение 2 месяцев трансфузий эритроцитсодержащих компонентов позволило выполнить адсорбцию тепловых аутоантител собственными эритроцитами больной (аутологичная адсорбция). Скрининг аллоиммунных антител был выполнен после проведения аутоадсорбции сыворотки в НАГТ (I–IV). Был получен отрицательный результат, свидетельствующий об отсутствии аллоиммунных антител у больной. Пробы на совместимость с донорскими эритроцитами были проведены с сывороткой после аутоадсорбции. Подобранные 4 дозы аллогенных эритроцитов были перелиты без осложнений.

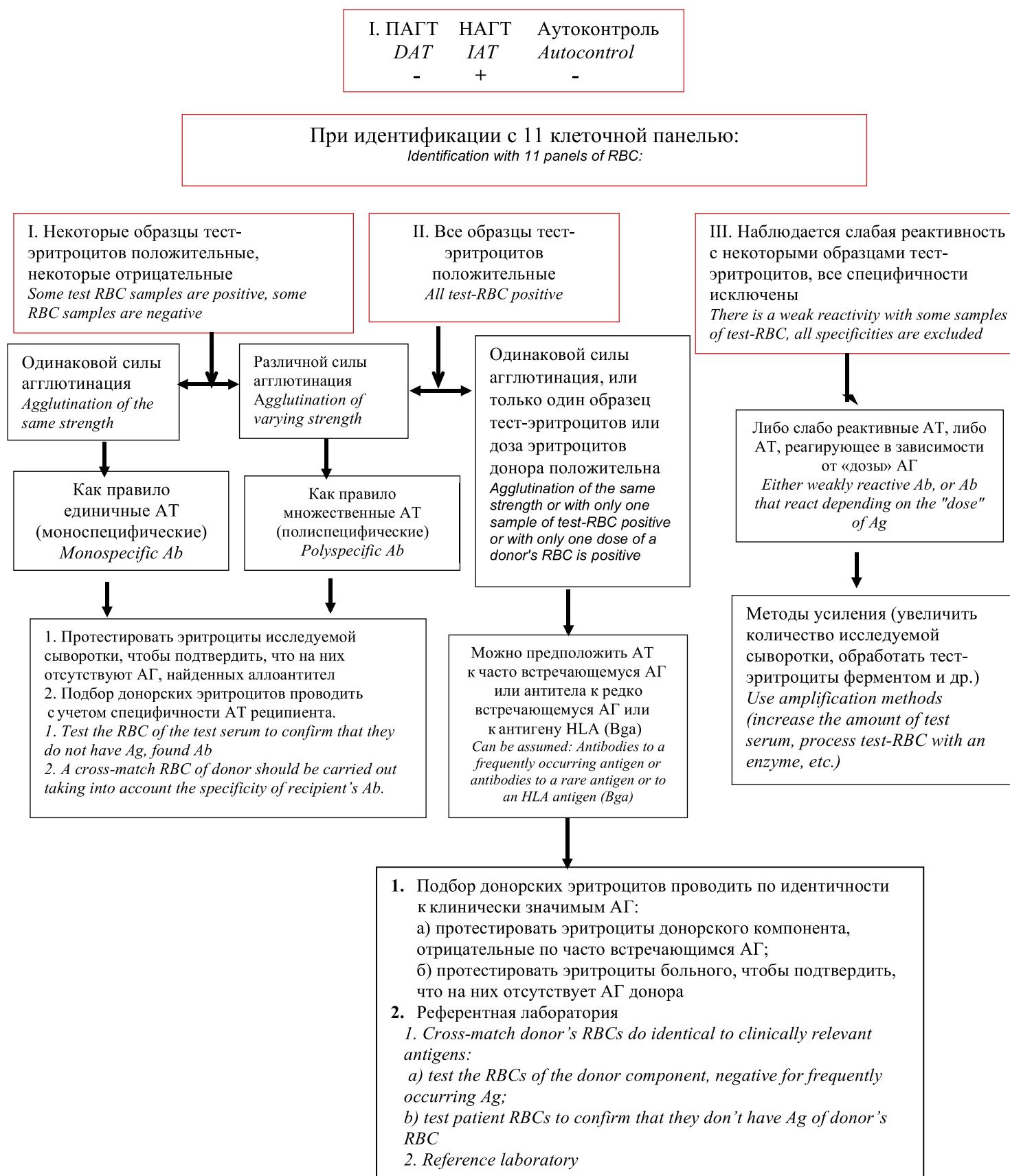


Рисунок 2. Алгоритм действий врача при идентификации антител

Примечание. ПАГТ — прямой антиглобулиновый тест, НАГТ — непрямой антиглобулиновый тест.

Figure 1. The scheme of the algorithm of the doctor's actions in the serological testing of antibodies

Note. DAGT — Direct antiglobulin test, IAGT — indirect antiglobulin test, AB — antibody, AG — antigen, HLA — histocompatibility antigens.

Пример 2. Больной Л., 31 год. Диагноз: Гемолизическая анемия неясного генеза, спленомегалия. В анамнезе было переливание донорских эритроцитов за 3 недели до обследования. Планировалась спленэктомия. Были выполнены стандартное иммуногематологическое обследование больного: определена группа крови систем АВО и Резус, проведен скрининг антител в гелевых картах в НАГТ(I–IV). Сыворотка больного агглютинировала все стандартные эритроциты, силу реакции оценили на 4+. Идентифицировать специфичность антител не удалось, так как сыворотка больного агглютинировала все стандартные клетки (I–XV) на 4+. На собственных эритроцитах выявлены фиксированные антитела: ПАГТ 4+, класс иммуноглобулинов IgG. Реакция собственной сыворотки с аутологичными эритроцитами (аутоконтроль) была положительной на 4+. Для проведения аллогенной адсорбции, учитывая недавнюю трансфузию эритроцитсодержащих компонентов, определяли расширенный фенотип реципиента по клинически значимым антигенам систем Rh, Kell, Duffy Kidd, MNS, Lutheran, Lewis, P. Фенотип был определен как: D+, C+, c+, E-, e+, K-, k+, Kp^a-, Kp^b+, S+, s+, Fy^a+, Fy^b+, Le^a-, Le^b+, Pl^a+, Lu^a-, Jk^a+, Jk^b+, антигены M, N, Lu^b определить не удалось, т. к. выявлены две популяции эритроцитов. Проводили адсорбцию сыворотки больного донорскими эритроцитами (аллогенная адсорбция), учитывая результаты расширенного фенотипирования. Оценить результаты аллогенной адсорбции не представлялось возможным из-за гемолизиро-

ванной сыворотки больного. Тогда была проведена тепловая элюция фиксированных на аутологичных эритроцитах антител. С полученным элюатом был выполнен скрининг антиэритроцитарных антител со стандартными эритроцитами I–IV при температуре 37 °C, были выявлены аллоиммунные антитела. Специфичность выявленных аллоантител определена с помощью 15-клеточной панели стандартных эритроцитов как анти-M, -S. Из базы данных банка замороженных донорских эритроцитов были подобраны донорские эритроциты, не содержащие антигены M и S. Перед трансфузией пробы на совместимость были проведены с элюатом, результаты которых были отрицательные, то есть совместимы с донорскими эритроцитами. Проведена трансфузия эритроцитсодержащих компонентов без осложнений.

Таким образом, целью предтрансфузионного тестирования реципиентов и доноров является подбор совместимых компонентов донорской крови, который может представлять трудности, обусловленные заболеванием больного, особенностями его генетической или иммунной системы, влиянием различных анамнестических факторов (беременностей, предыдущих гемотрансфузий и др.). Врач-иммуногематолог должен максимально полно провести иммуносерологические исследования перед трансфузией, чтобы избежать возможных осложнений. Представленные в настоящей работе алгоритмы помогут систематизировать действия по повышению иммунологической безопасности трансфузионной терапии.

Литература

1. Garratty G., Arndt P.A. Positive direct antiglobulin tests and hemolytic anemia following therapy with beta-lactamase inhibitor containing drugs may be associated with nonimmunologic adsorption of protein onto red blood cells. *Br J Haematology*. 1998; 100: 777–83.
2. Issitt P.D., Anstree D.J. *Applied blood group serology*. 4th ed. Montgomery: Scientific Publications; 1998. 1208 p.
3. Milkins C., Berryman J., Cantwell C., et al. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. *British Committee for Standards in Haematology. Transfusion Medicine*. 2013; 23(1): 3–35.
4. Минеева Н.В., Бодрова Н.Н., Заварзина О.А. и др. Анализ ошибок при проведении иммуногематологических исследований. *Вестник служб крови*. 2007; 2: 3–5.
5. Минеева Н.В. Совершенствование системы обеспечения трансфузий, совместимых по антигенам эритроцитов. *Здравоохранение и медицинская техника*. 2004; 5(9): 25–7.
6. Минеева Н.В., Бутина Е.В. Иммуногематологическое обследование доноров крови и (или) ее компонентов и реципиентов. Методические указания МУ ФМБА России 11.6.1-2017.
7. Пашкова И.А., Рыжанова Л.Г., Федоренко Т.В. и др. Анализ специфичности аллоиммунных антител, выявленных у реципиентов. *Гематология и трансфузиология*. 2009; 54(5): 31–4.
8. Pashkova I., Porhanov V., Gilevich I., et al. Surgeon patients and Transfusion in a Krasnodar regional hospital. *Vox Sanguinis*. 2013; 105(1): 266.

References

1. Garratty G., Arndt P.A. Positive direct antiglobulin tests and hemolytic anemia following therapy with beta-lactamase inhibitor containing drugs may be associated with nonimmunologic adsorption of protein onto red blood cells. *Br J Haematology*. 1998; 100: 777–83.
2. Issitt P.D., Anstree D.J. *Applied blood group serology*. 4th ed. Montgomery: Scientific Publications; 1998. 1208 p.
3. Milkins C., Berryman J., Cantwell C., et al. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. *British Committee for Standards in Haematology. Transfusion Medicine*. 2013; 23(1): 3–35.
4. Mineeva N.V., Bodrova N.N., Zavarzina O.A., et al. Error analysis during immunohematological studies. *Vestnik sluzhby krovi*. 2007; 2: 3–5 (In Russian).
5. Mineeva N.V. Improving the system for ensuring transfusions compatible with red blood cell antigens. *Zdravoohranenie i medicinskaya tekhnika*. 2004; 5(9): 25–7 (In Russian).
6. Mineeva N.V., Butina E.V. Immunohematological examination of blood donors and/or its components and recipients. *Metodicheskie ukazaniya MU FMBA Ros-sii 11.6.1-2017* (In Russian).
7. Pashkova I.A., Ryzhanova L.G., Fedorenko T.V., et al. Analysis of the specificity of alloimmune antibodies detected in recipients. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2009; 54(5): 31–4 (In Russian).
8. Pashkova I., Porhanov V., Gilevich I., et al. Surgeon patients and Transfusion in a Krasnodar regional hospital. *Vox Sanguinis*. 2013; 105(1): 266.

9. Brecher M.E. (editor). Technical Manual AABB, 15th Edition. 2005. 407–81 p.
10. Haas F.J.L.M., van Rhenen D.J., de Vries R.R.P. Guidelines for compatibility procedures in blood transfusion laboratories. *Transfusion Medicine*. 2004; 14: 59–73.
11. Минеева Н.В. Группы крови человека. Основы иммунологии. СПб.; 2004. 188 с.
12. Прокоп О., Гелер В. Группы крови человека. М.: Медицина; 1991. 511 с.
13. Минеева Н.В. Антитела к антигенам эритроцитов и методы их выявления. Методические рекомендации. СПб.; 2000. 14 с.
14. Минеева Н.В., Бодрова Н.Н., Трофимова С.А. Значение ферментного метода для выявления клинически значимых антиэритроцитарных антител. *Новое в трансфузиологии*. 2001; 29: 55–8.
15. Klapper E., Zhang Y., Figueroa P., et. al. Toward extended phenotype matching: a new operational paradigm for the transfusion service. *Transfusion*. 2010; 50(3): 536–46.
16. Sapatnekar S., Figueroa P.I. How do we use molecular red blood cell antigen typing to supplement pretransfusion testing? *Transfusion*. 2014; 54(6): 1452–8.
17. Garratty G., Postoway N., Nance S., Brunt D. Spontaneous agglutination of red cells with a positive direct antiglobulin test in various media. *Transfusion*. 1984; 24: 214–7.
9. Brecher M.E. (editor). Technical Manual AABB, 15th Edition; 2005. 407–81 p.
10. Haas F.J.L.M., van Rhenen D.J., de Vries R.R.P. Guidelines for compatibility procedures in blood transfusion laboratories. *Transfusion Medicine*. 2004; 14: 59–73.
11. Mineeva N.V. Blood groups. *Osnovy immunologii*. St. Petersburg; 2004. 188 p. (In Russian).
12. Prokop O., Geler V. Blood groups. Moscow: Medicine; 1991. 511 p. (In Russian).
13. Mineeva N.V. Antibodies to erythrocyte antigens and methods for their detection. Guidelines. St. Petersburg; 2000. 14 p. (In Russian).
14. Mineeva N.V., Bodrova H.H., Trofimova S.A. The value of the enzyme method for the detection of clinically significant anti-erythrocyte antibodies. *Novoe v transfuziologii*. 2001; 29: 55–8 (In Russian).
15. Klapper E., Zhang Y., Figueroa P., et. al. Toward extended phenotype matching: a new operational paradigm for the transfusion service. *Transfusion*. 2010; 50(3): 536–46.
16. Sapatnekar S., Figueroa P.I. How do we use molecular red blood cell antigen typing to supplement pretransfusion testing? *Transfusion*. 2014; 54(6): 1452–8.
17. Garratty G., Postoway N., Nance S., Brunt D. Spontaneous agglutination of red cells with a positive direct antiglobulin test in various media. *Transfusion*. 1984; 24: 214–7.

Информация об авторе

Пашкова Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, заведующая отделением переливания крови Краевой клинической больницы № 1 им. С.В. Очаповского Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: irpash@mail.ru, тел.: +7(861)252-52-59, +7(906)187-21-81; 350086, г. Краснодар, ул. 1 Мая, д. 167.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0850-7343>

Поступила: 16.02.2019

Принята к печати: 14.05.2019

Information about the author

Irina A. Pashkova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Blood Transfusion Department, Research Institute — Regional Clinical Hospital 1 n.a. Prof. S.V. Ochapovsky, e-mail: irpash@mail.ru, тел.: +7(861)252-52-59, +7(906)187-21-81; 350086, Krasnodar, 1st of May str., 167.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0850-7343>

Received 16 Feb 2019

Accepted 14 May 2019

ПРИАПИЗМ КАК ПЕРВЫЙ ПРИЗНАК ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА

Рустамов М. Н.^{1,*}, Гусейнов Г. Р.², Ахмедов И. С.²

¹Клиника Medera Hospital, AZ 1000, г. Баку, Азербайджан

²Азербайджанский медицинский университет, AZ 1022, г. Баку, Азербайджан

РЕЗЮМЕ

Введение. Приапизм — длительная болезненная эрекция, которая продолжается свыше четырех часов, сохраняющаяся после прекращения сексуальной стимуляции или не связанная с ней. Приапизм может быть первым клиническим проявлением хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ).

Цель клинического наблюдения — описать ишемический приапизм, возникший у больного с не диагностированным ранее ХМЛ.

Основные сведения. Представлено наблюдение ишемического приапизма длительностью 18 часов, возникшего у больного с не диагностированным ранее ХМЛ. В последующем диагноз ХМЛ был установлен на основании исследования периферической крови и костного мозга. Лечебная тактика состояла из немедленной пункционной аспирации крови из кавернозных тел и внутрикавернозной инъекции раствора фенилэфрина. После купирования приапизма проводилась терапия ХМЛ, которая позволила избежать рецидива приапизма у больного.

Ключевые слова: приапизм, хронический миелоидный лейкоз

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Рустамов М.Н., Гусейнов Г.Р., Ахмедов И.С. Приапизм как первый признак хронического миелолейкоза. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2): 234–237. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-234-237>

PRIAPISM AS THE FIRST SIGN OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Rustamov M. N.^{1,*}, Huseynov G. R.², Akhmedov I. S.²

¹Medera Hospital, AZ 1000, Baku, Azerbaijan

²Azerbaijan Medical University, AZ 1022, Baku, Azerbaijan

ABSTRACT

Introduction. Priapism is a prolonged painful erection lasting for more than four hours, which either persists after the termination of sexual stimulation or is not associated therewith. Priapism may be the first clinical manifestation of chronic myeloid leukemia (CML).

Aim. To describe a clinical case of ischemic priapism that occurred in a patient with a previously undiagnosed CML.

General findings. We present a clinical observation of ischemic priapism having lasted for 18 hours, which occurred in a patient with a previously undiagnosed CML. The diagnosis of CML was subsequently established on the basis of a study of peripheral blood and bone marrow. The therapeutic tactics consisted in an immediate puncture aspiration of blood from the corpora cavernosa and an intracavernous injection of a phenylephrine solution. After priapism had been relieved, an CML therapy was applied, which allowed the recurrence of priapism in the patient to be avoided.

Keywords: priapism, chronic myeloid leukemia

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Rustamov M.N., Huseynov G.R., Akhmedov I.S. Priapism as the first sign of chronic myeloid leukemia. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(2):234–237 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-234-237>

Введение

Приапизм — длительная болезненная эрекция, которая продолжается свыше четырех часов, сохраняющаяся после прекращения сексуальной стимуляции или не связанная с ней [1]. Это редкое урологическое заболевание, частота встречаемости приапизма составляет 0,5–0,9 случая на 100 000 человек [2]. Однако в последнее время отмечается рост заболеваемости приапизмом вследствие широкого применения лекарственных средств для лечения эректильной дисфункции [3]. Наиболее частыми причинами приапизма являются побочный эффект лекарственных препаратов, травмы, неврологические расстройства, серповидно-клеточная анемия и другие заболевания крови [4]. Частота развития приапизма у взрослых мужчин, больных лейкозом, составляет 1–5 % [5]. Лейкоз может стать причиной развития веноокклюзивной (ишемической) формы приапизма вследствие повышенной вязкости циркулирующей крови. Приапизм может быть первым клиническим проявлением хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) [6–9].

Цель настоящего клинического наблюдения — описать ишемический приапизм, возникший у больного с не диагностированным ранее ХМЛ.

Клиническое наблюдение

Считавший себя ранее здоровым некурящий мужчина в возрасте 35 лет обратился в отделение неотложной помощи с жалобами на внезапно возникшую болезненную эрекцию и припухлость мошонки, продолжающиеся последние 18 часов. В анамнезе у больного заболеваний крови, травм, использования лекарственных препаратов для лечения эректильной дисфункции, в том числе интракавернозных инъекций, не было. Больной рассказал, что за последние два года у него было три похожих случая, когда болезненная эрекция продолжалась несколько часов и разрешалась самостоятельно после приема горячего душа. Больной к врачу не обращался.

При физикальном осмотре кожные покровы у него были бледные, половой член — эрегированный и болезненный, при пальпации тело полового члена — твердое, головка — мягкая. Селезенка пальпировалась ниже левой реберной дуги на 3 см, край печени определялся ниже правой реберной дуги на 2 см. В общем анализе мочи, биохимическом анализе сыворотки крови (функциональные печеночные пробы, креатинин, мочевины, электролиты), при рентгенографии органов грудной клетки, ЭКГ патологии выявлено не было. Данные общего анализа крови: концентрация гемоглобина — 115 г/л, гематокрит — 32 %, количество лейкоцитов — $449,96 \times 10^9/\text{л}$, количество тромбоцитов — $368 \times 10^9/\text{л}$. Данные газового состава крови при пункции кавернозных тел указывали на ишемический приапизм (рН 7,10, PO_2 — 30 мм рт. ст. PCO_2 — 63 мм рт. ст.). Лечебная тактика состояла из пункционной аспирации крови иглой калибром 19G из кавернозных тел и внутрикавернозной инъекции 2 мл раствора фенилэфрина, разведенного в 0,9 % растворе натрия хлорида до концентрации 100 мкг/мл, каждые 5 минут в течение часа. После чего отмечалось постепенное исчезновение эрекции. В дальнейшем, в связи с выраженным лейкоцитозом, для обследования и лечения больной был переведен в гематологическое отделение. В пунктате костного мозга у него была выявлена гиперклеточность с миелоидной гиперплазией без увеличения количества бластных клеток. При цитогенетическом исследовании в клетках костного мозга выявлена филадельфийская (Ph) хромосома. На основании клинической картины, анализа крови и пунктата костного мозга у больного был диагностирован ХМЛ и начато лечение иматинибом в дозе 400 мг/сут, гидроксикарбамидом 3 г/сут, аллопуринолом 300 мг/сут. В результате лечения в течение года количество лейкоцитов крови постепенно уменьшилось до $8 \times 10^9/\text{л}$, приступы приапизма больше не повторялись.

Обсуждение

Различают два вида приапизма — ишемический (веноокклюзионный, или низкопоточный) и неишемический (артериальный, или высокопоточный) [10]. Дифференциальный диагноз между ишемическим и неишемическим приапизмом можно провести на основании исследования газового состава крови, полученной при пункции кавернозных тел [11]. Для ишемического приапизма характерны $PO_2 < 30$ мм рт. ст., $PCO_2 > 60$ мм рт. ст. и $pH < 7,25$, при неишемическом приапизме газовый состав соответствует артериальной или смешанной венозной крови $PO_2 > 40$ мм рт. ст., $pCO_2 < 40$ –50 мм рт. ст. и $pH 7,35$ –7,40 [11]. Неишемический приапизм обычно возникает вследствие травмы. Причинами ишемического приапизма могут быть интракорпоральные инъекции вазоактивных субстанций, таких как папаверин, простагландин E1, фентоламин, а также гипервискозный синдром при таких гематологических заболеваниях, как истинная полицитемия, ХМЛ, множественная миелома [10]. Онкогематологические заболевания чаще всего становятся причиной развития веноокклюзивной (ишемической, низкопоточной) формы приапизма. В процессе детумесценции важная роль принадлежит оксиду азота (NO) и простагландинам (PGI_2), у онкогематологических больных вследствие гиперклеточности и повышенной вязкости циркулирующей крови нарушается синтез NO и PGI_2 , что приводит к усилению агрегации тромбоцитов и адгезии лейкоцитов. Тромбоциты прилипают к базальной мембране синусоидальных пространств, развивается пролиферация фибробластов и нарушается сократительная функция гладкой мускулатуры кавернозных тел [12]. Таким образом, кровоток в кавернозных телах ослабевает и усиливается застой крови, что приводит к развитию приапизма. Ишемия продолжительностью более 32 часов сопровождается разрушением эндотелия и трабекул с последующим необратимым фиброзом, приводя к эректильной дисфункции [12].

В литературе приводятся два клинических наблюдения ишемического приапизма у больных хроническим лимфолейкозом с количеством лейкоцитов крови $92 \times 10^9/\text{л}$ [10, 13] и $503 \times 10^9/\text{л}$ [11, 14]. В двух других наблюдениях сообщалось о развитии приапизма у больных острым лимфобластным лейкозом с лейкоцитозом $274 \times 10^9/\text{л}$ [12, 15] и $618 \times 10^9/\text{л}$ [13, 16].

У больных ХМЛ приапизм возникает вследствие гиперлейкоцитоза, сопровождающегося лейкостазами и гипервискозностью, что обычно наблюдается при увеличении количества лейкоцитов крови более $100 \times 10^9/\text{л}$, что, в свою очередь, приводит к обструкции

вен тромбами и микротромбами [10]. Другой патогенетический фактор, приводящий к развитию приапизма при ХМЛ, — это избыточная продукция цитокинов и молекул адгезии лейкоцитами клетками, что приводит к повышенной секвестрации клеток в микрососудах [10].

Первое описание приапизма у больного ХМЛ было сделано в 1974 г. S.M. Schreibman и соавт. [17]. Это осложнение регистрируется у 1–2 % мужчин, больных ХМЛ, с бимодальным возрастным распределением: он встречается в возрасте 5–10 и 20–50 лет [18]. Приапизм может быть первым клиническим проявлением гематологического заболевания. Лечение приапизма при ХМЛ требует мультидисциплинарного подхода, который предусматривает участие урологов, гематологов, морфологов и других специалистов. Американская ассоциация урологов рекомендует комбинированный подход к лечению приапизма при ХМЛ и подчеркивает важность системной терапии ХМЛ [5].

Целью лечебных мероприятий при приапизме является своевременное купирование патологической эрекции и снятие болевого синдрома, что позволяет предотвратить повреждение кавернозных тел. Это может быть достигнуто различными путями. Терапией первой линии является пункционная аспирация крови из кавернозных тел и внутрикавернозное введение адреномиметиков. Описано разрешение приступа приапизма у больных хроническим лимфолейкозом и ХМЛ при проведении лейкоцитафереза, при котором механически удаляются избыточные лейкоциты [14, 19]. Хирургические методы являются терапией второй линии и применяются только в тех случаях, когда консервативные меры оказались безуспешными. Хирургическое лечение приапизма заключается в создании анастомоза между кавернозными телами и губчатым телом (спонгиокавернозный шунт) или системой подкожной вены бедра (сафенокавернозный шунт) для оттока крови из кавернозных тел. Кроме того, в тех случаях, когда шунтирующие операции оказываются неэффективными или продолжительность приапизма составила более 36 часов, выполняют имплантацию протеза полового члена.

В настоящем клиническом наблюдении наряду с купированием приапизма проводилась системная терапия ХМЛ, в результате которой нормализовалось количество лейкоцитов крови. На протяжении года наблюдения больного после данной терапии рецидива приапизма не было. Системная терапия ХМЛ, проводимая гематологами, позволила избежать рецидива приапизма у больного.

Литература / References

- Salonia A., Eardley I., Giuliano F., et al. European Association of Urology guidelines on priapism. *Eur Urol.* 2014; 65(2): 480–9. DOI: 10.1016/j.eururo.2013.11.008
- Eland I.A., van der Lei J., Stricker B.H., Sturkenboom M.J. Incidence of priapism in the general population. *Urology.* 2001; 57 (5): 970–2.
- Metaweia B., El-Nashar A.R., Gad-Allah A., et al. Intracavernous papaverine/phentolamine-induced priapism can be accurately predicted with color Doppler ultrasonography. *Urology.* 2005; 66(4): 858–60.
- Keoghane S.R., Sullivan M.E., Miller M.A. The aetiology, pathogenesis and management of priapism. *BJU Int.* 2002; 90(2): 149–54.
- Montague D.K., Jarow J., Broderick G.A., et al. American Urological Association guideline on the management of priapism. *J Urol.* 2003; 170 (4 Pt 1):1318–24. DOI: 10.1097/01.ju.0000087608.07371.ca
- Huei T.J., Lip H.T., Shamsuddin O. A rare presentation of chronic myeloid leukaemia with priapism treated with corporoglandular shunting. *Med J Malaysia.* 2018; 73(6): 420–2.
- Dhar J., Dhar J., Chhabra G., et al. Priapism as a Debut Presentation of Chronic Myeloid Leukemia *J Coll Physicians Surg Pak.* 2019; 29(1): 78–80. DOI: 10.29271/jcsp.2019.01.78
- Kumar P., Rahman K., Kumari S., et al. Priapism as a rare presentation of chronic myeloid leukemia. *J Cancer Res Ther.* 2018; 14(6): 1442–3. DOI:10.4103/0973-1482.199388
- Khan A., Shafiq I., Shah M.H., et al. Chronic myeloid leukaemia presenting as priapism: A case report from Khyber Pakhtunkhwa. *J Pak Med Assoc.* 2018; 68(6): 942–4. PMID: 30323364
- Shaeer O.K., Shaeer K.Z., AbdelRahman I.F., et al. Priapism as a result of chronic myeloid leukemia: case report, pathology, and review of the literature. *J Sex Med.* 2015; 12(3): 827–34. DOI: 10.1111/jsm.12812
- Minckler M.R., Conser E., Figueroa J.J., et al. The Semantics of Priapism and the First Sign of Chronic Myeloid Leukemia *Case Rep Emerg Med.* 2017; 2017: 2656203. DOI: 10.1155/2017/2656203
- Rodgers R., Latif Z., Copland M. How I manage priapism in chronic myeloid leukaemia patients. *Br.J. Haematol.* 2012; 158: 155–164. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2012.09151.x
- Gogia A., Sharma A., Raina V., Gupta R. Priapism as an initial presentation of chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2012; 53(8): 1638–9. DOI: 10.3109/10428194.2012.656636
- Strobel E., Howe J., Bäcker U., et al. Therapeutic lymphapheresis in leukostasis-induced priapism. *Dtsch Med Wochenschr.* 1987; 112(51–52): 1984–5.
- Castagnetti M., Sainati L., Giona F., et al. Conservative Management of Priapism Secondary to Leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2008; 51(3): 420–3 DOI: 10.1002/pbc.21628
- Mentzel H.J., Kentouche K., Doerfel C., et al. High-flow priapism in acute lymphatic leukaemia. *Pediatr Radiol.* 2004; 34 (7):560–3. DOI: 10.1007/s00247-003-1124-1
- Schreibman S.M., Gee T.S., Grabstald H. Management of priapism in patients with chronic granulocytic leukemia. *J Urol.* 1974; 111: 786–8.
- Cherian J., Rao A.R., Thwaini A., et al. Medical and surgical management of priapism. *Postgrad Med. J.* 2006; 82: 89–94.
- Ergenc H., Varim C., Karacaer C., Çekdemir D. Chronic myeloid leukemia presented with priapism: Effective management with prompt leukapheresis. *Niger J Clin Pract.* 2015; 18(6): 828–30. DOI: 10.4103/1119-3077.163282

Информация об авторах

Рустамов Маариф Назир Оглы*, врач-уролог, аспирант института урологии и репродуктивного здоровья человека ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет), Клиника Medera Hospital, e-mail: rustamovmaarif@gmail.com, тел.: +7(951)066-81-93; AZ 1000, г. Баку, ул. Нахчивани, 13. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4768-3841>

Гусейнов Габиль, врач-уролог, резидент кафедры урологии Азербайджанского Медицинского Университета, e-mail: drqabilhuseynov@gmail.com, тел.: (+994) 506-020-575 ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0990-9133>

Ахмедов Ильхам, врач уролог-андролог, президент общества андрологов Азербайджана, доктор медицинских наук, профессор кафедры урологии Азербайджанского Медицинского Университета, e-mail: doctor.ilham@hotmail.com ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3146-9931>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила 14.02.2019

Принята к печати: 14.05.2019

Information about the authors

Maarif Nazir Ogly Rustamov*, Urologist, Post-graduate Researcher, Institute of Urology and Reproductive Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Medera Hospital Clinic, e-mail: rustamovmaarif@gmail.com, tel.: + 7 (951) 066-81-93; AZ 1000, Baku, Nahyvani str., 13. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4768-3841>

Gabil Huseynov, Urologist, Resident of Department of Urology Azerbaijan Medical University, e-mail: drqabilhuseynov@gmail.com ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0990-9133>

Ilham Akhmedov, Urologist-Andrologist, Dr. Sci. (Med.), President of Azerbaijan Andrology Society Prof., Department of Urology, Azerbaijan Medical University, e-mail: doctor.ilham@hotmail.com ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3146-9931>

*** Corresponding author**

Received 14 Feb 2019

Accepted 14 May 2019

II КОНГРЕСС ТРАНСФУЗИОЛОГОВ РОССИИ

26 – 27 НОЯБРЯ 2020 ГОДА, МОСКВА

Глубокоуважаемые коллеги!

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ
СОВЕТ НГО ПО ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

ПРОВОДЯТ 26–27 НОЯБРЯ 2020 ГОДА В МОСКВЕ II КОНГРЕСС ТРАНСФУЗИОЛОГОВ РОССИИ

В конгрессе примут участие ведущие российские и зарубежные специалисты в области трансфузиологии, гематологии, трансплантации костного мозга, реаниматологии, клинической лабораторной диагностики, фундаментальных исследований.

**Конгресс будет проходить по адресу: г. Москва, площадь Европы, д. 2;
Деловой центр гостиницы «Рэдиссон Славянская».
Научная программа конгресса будет аккредитована по системе НМО.**

Регистрация участников на II конгресс открыта 1 ноября 2019 г. на сайте НГО <https://npngo.ru>

Участие в конгрессе не предусматривает регистрационных взносов.
Тезисы конгресса будут напечатаны в журнале «Гематология и трансфузиология».
Авторы лучших работ будут приглашены стать участниками постерной экспозиции конгресса.

Вся информация по II конгрессу трансфузиологов России будет представлена на сайте НГО <https://npngo.ru>.

