

Международный научно-практический журнал

ГЕМАТОЛОГИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

Восточная
Европа

2024, том 10, № 4

Hematology Transfusiology Eastern Europe
International scientific journal

2024, volume 10, number 4



Четырехъярусный водопад Митчелл – одна из самых ярких природных достопримечательностей Австралии. Расположен в регионе Кимберли в Западной Австралии на реке Митчелл в одноименном Национальном парке. Имеет суммарный перепад высот около 80 метров. Занимает второе место на пьедестале самых высоких водопадов штата.

ISSN 2411-8966 (Print)
ISSN 2414-3693 (Online)



9 772411 896008



ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ
ИЗДАНИЯ

Международный научно-практический журнал

ГЕМАТОЛОГИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

Восточная
Европа

International scientific journal

HEMATOLOGY TRANSFUSIOLOGY

Hematologija Transfuziologija Vostochnaja Evropa

gemtrans.recipe.by

2024, том 10, № 4

2024, volume 10, № 4

Основан в 2015 г.

Founded in 2015

БЕЛАРУСЬ

Журнал зарегистрирован

в Министерстве информации Республики Беларусь
Регистрационное свидетельство № 1763

Учредители:

УП «Профессиональные издания», ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»

Редакция:

Директор Евтuschenko Л.А.

Заместитель главного редактора Глушук В.А.

Руководитель службы рекламы и маркетинга Коваль М.А.

Технический редактор Нужин Д.В.

Адрес:

220035, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. Тимирязева, 67, офис 1103, п/я 5.
Тел.: +375 (17) 322 16 59
e-mail: gemtrans@recipe.by

Подписка

в каталоге РУП «Белпочта» (Беларусь)
индивидуальный индекс 00315,
ведомственный индекс 003152

В электронных каталогах на сайтах агентств:

ООО «Прессинформ», ООО «Криэтив Сервис Бэнд»,
ООО «Екатеринбург-ОПТ», ООО «Глобалпресс»

Электронная версия журнала доступна на сайтах gemtrans.recipe.by, в Научной электронной библиотеке eLibrary.ru, в базе данных East View, в электронной библиотечной системе IPRbooks

По вопросам приобретения журнала обращайтесь в редакцию
Журнал выходит 1 раз в 3 месяца
Цена свободная

Подписано в печать: 21.11.2024

Тираж 500 экз.

Заказ №

Формат 70x100 1/16. Печать офсетная

16+

Отпечатано в типографии

Производственное дочернее унитарное предприятие

«Типография Федерации профсоюзов Беларуси».

Свидетельство о государственной регистрации издателя,

изготовителя, распространителя печатных изданий

№2/18 от 26.11.2013. Пл. Свободы, 23-103, г. Минск.

ЛП №02330/54 от 12.08.2013.

© «Гематология Трансфузиология Восточная Европа»

Авторские права защищены. Любое воспроизведение материалов издания возможно только с обязательной ссылкой на источник.

© УП «Профессиональные издания», 2024

© Оформление и дизайн. УП «Профессиональные издания», 2024

BELARUS

The journal is registered

in the Ministry of information of the Republic of Belarus
Registration certificate № 1763

Founders:

UE "Professional Editions", SI
"Republican Scientific and Practical Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology"; SI "Republican Scientific-Practical Center of Transfusion and medical biotechnologies"; SI "Minsk Scientific-Practical Center of Surgery, Hematology and Transplantology"

Editorial office

Director Evtushenko L.

Deputy editor-in-chief Glushuk V.

Head of advertising and marketing Koval M.

Technical editor Nuzhyn D.

Address

67 Timiryazev str., office 1103,
Minsk, 220035, Republic of Belarus, P.O. box 5
Phone: +375 (17) 322 16 59
e-mail: gemtrans@recipe.by

Subscription

In the catalogue of the Republican Unitary Enterprise "Belposhta" (Belarus): individual index – 00315,
departmental index – 003152

In electronic catalogs on web-sites of agencies:

LLC "Pressinform", LLC "Krieditiv Servis Bend",
LLC "Ekaterynburg-OPT", LLC "Globalpress"

The electronic version of the journal is available on gemtrans.recipe.by, on the Scientific electronic library eLibrary.ru, in the East View database, in the electronic library system IPRbooks

Concerning acquisition of the journal address to the editorial office
The frequency of journal is 1 time in 3 months
The price is not fixed

Sent for the press 21.11.2024

Circulation is 500 copies

Order №

Format 70x100 1/16. Litho

16+

Printed in printing house

© "Hematology Transfusiology Eastern Europe"

Copyright is protected. Any reproduction of materials of the edition is possible only with an obligatory reference to the source.

© "Professional Editions" Unitary Enterprise, 2024

© Design and decor of "Professional Editions" Unitary Enterprise, 2024

Беларусь

Главный редактор

Усс Анатолий Леонидович, доктор медицинских наук, профессор, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Редакционная коллегия

Белевцев Михаил Владимирович, кандидат биологических наук, заместитель директора по научной работе, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск)

Зуховицкая Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент 1-й кафедры внутренних болезней, Гродненский государственный медицинский университет (Гродно)

Искров Игорь Александрович, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий отделом онкогематологии, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Карпенко Федор Николаевич, доктор медицинских наук, Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск)

Климович Ольга Владимировна, кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по трансфузиологии, 6-я городская клиническая больница (Минск)

Кривенко Светлана Ивановна, доктор медицинских наук, доцент, заместитель главного врача по науке, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Лебедева Татьяна Викторовна, кандидат медицинских наук, ученый секретарь, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Миланович Наталья Феодосиевна, кандидат медицинских наук, заведующий отделением трансплантации костного мозга, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Потапнев Михаил Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом клеточных биотехнологий, Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск)

Пролесковская Инна Витальевна, кандидат медицинских наук, доцент, главный внештатный детский онкогематолог Министерства здравоохранения Республики Беларусь, заместитель директора по клинике Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск)

Рожко Александр Валентинович, доктор медицинских наук, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (Гомель)

Углова Татьяна Алексеевна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией клинических исследований научного отдела, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск)

Ходулева Светлана Александровна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней №1 с курсами эндокринологии и гематологии Гомельский государственный медицинский университет (Гомель)

Рецензируемое издание

Входит в Перечни научных изданий Республики Беларусь и Российской Федерации для опубликования результатов диссертационных исследований.

Журнал включен в базы данных EBSCO, Ulrich's Periodicals Directory, CNKI, РИНЦ.

Ответственность за точность приведенных фактов, цитат, собственных имен и прочих сведений, а также за разглашение закрытой информации несут авторы.

Редакция может публиковать статьи в порядке обсуждения, не разделяя точку зрения автора.

Ответственность за содержание рекламных материалов и публикаций с пометкой «На правах рекламы» несут рекламодатели.

Россия

Главный редактор

Рукавицын Олег Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, начальник гематологического центра Главного военного клинического госпиталя им. академика Н.Н. Бурденко Минобороны России (Москва)

Редакционная коллегия

Волошин Сергей Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент, руководитель клинического отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга, Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства (Санкт-Петербург)

Губкин Андрей Владимирович, кандидат медицинских наук, главный гематолог Центральной дирекции здравоохранения – филиала ОАО «РЖД» (Москва)

Капланов Камилл Даниялович, кандидат медицинских наук, заведующий гематологическим отделением, Городская клиническая больница им. С.П. Боткина (Москва)

Логинава Мария Александровна, доктор биологических наук, помощник директора по деятельности Федерального регистра доноров костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, заведующий научно-исследовательской лабораторией прикладной иммуногенетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства"; профессор кафедры Микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятский государственный университет» (Киров)

Парамонов Игорь Владимирович - доктор медицинских наук, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства" (Киров).

Рагимов Алигейдар Агаалекпер оглы, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической трансфузиологии, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Москва)

Румянцев Александр Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик Российской академии наук, Президент центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева Минздрава России (Москва)

Стуклов Николай Игоревич, доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсами эндокринологии, гематологии и клинической лабораторной диагностики, Российский университет дружбы народов; главный научный сотрудник отделения высокодозной химиотерапии с блоком трансплантации костного мозга, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиала Национального медицинского исследовательского центра Радиологии Минздрава России (Москва)

Трахтман Павел Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением трансфузиологии, заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток, Центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева Минздрава России (Москва)

Шатохин Юрий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гематологии, Ростовский государственный медицинский университет (Ростов-на-Дону)

Международный научно-практический журнал

ГЕМАТОЛОГИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

International scientific journal

HEMATOLOGY TRANSFUSIOLOGY

Hematologija Transfusiologija Vostochnaja Evropa

gemtrans.recipe-russia.ru

Восточная
Европа

2024, том 10, № 4

2024, volume 10, № 4

Основан в 2015 г.

Founded in 2015

РОССИЯ

Журнал зарегистрирован

Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Свидетельство ПИ № ФС77-63513

Учредитель и издатель

ООО «Вилин – Профессиональные издания»

Адрес редакции и издателя:

214522, Смоленская обл., Смоленский р-н,
с.п. Катynское, п. Авторемзавод, д. 1А, пом. 413
E-mail: gemtrans@recipe.by

Директор

Сакмаров А.В.

Подписка

В электронных каталогах на сайтах агентств:
ООО «Прессинформ», ООО «Криэтив Сервис Бэнд»,
ООО «Екатеринбург-ОПТ», ООО «Глобалпресс»

Электронная версия журнала доступна на сайтах gemtrans.recipe-russia.ru, в Научной электронной библиотеке elibrary.ru, в базе данных East View, в электронной библиотечной системе IPRbooks
По вопросам приобретения журнала обращайтесь в редакцию

Журнал выходит 1 раз в 3 месяца

Цена свободная

Подписано в печать: 21.11.2024

Дата выхода в свет: 02.12.2024

Тираж 3000 экз.

Заказ №

Формат 70x100 1/16. Печать офсетная

16+

Отпечатано в типографии

Производственное дочернее унитарное предприятие
«Типография Федерации профсоюзов Беларуси».
Адрес типографии: 220030, Республика Беларусь,
г. Минск, пл. Свободы, 23, офис 103

© «Гематология Трансфузиология Восточная Европа»

Авторские права защищены. Любое воспроизведение материалов издания возможно только с обязательной ссылкой на источник.

© ООО «Вилин – Профессиональные издания», 2024

RUSSIA

The journal is registered

by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media (Roskomnadzor)
Certificate ПИ No. ФС77-63513

Founder and Publisher

LLC "Vilin – Professional Editions"

Editorial and Publisher Address:

214522, Smolensk region, Smolensk district, rural settlement
Katynskoye, Avtozemzavod village, 1A, office 413
E-mail: gemtrans@recipe.by

Editorial office

Director Sakmarov A.

Subscription

In electronic catalogs on web-sites of agencies:
LLC "Pressinform", LLC "Kriativ Servis Bend",
LLC "Ekaterinburg-OPT", LLC "Globalpress"

The electronic version of the journal is available on gemtrans.recipe.by, on the Scientific electronic library elibrary.ru, in the East View database, in the electronic library system IPRbooks
Concerning acquisition of the journal address to the editorial office

The frequency of journal is 1 time in 3 months

The price is not fixed

Sent for the press 21.11.2024

Release date 02.12.2024

Circulation is 3000 copies

Order №

Format 70x100 1/16. Litho

16+

Printed in printing house

© "Hematology Transfusiology Eastern Europe"

Copyright is protected. Any reproduction of materials of the edition is possible only with an obligatory reference to the source.

© LLC "Vilin – Professional Editions", 2024

Belarus

Editor-in-chief

Anatoly L. Uss, Doctor of Medical Sciences, Professor, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Editorial Board

Mikhail V. Belevtsev, Candidate of Biological Sciences, Deputy Director for Research, Republican Scientific and Practical Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Minsk)

Elena V. Zukhovitskaya, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the 1st Department of Internal Diseases, Grodno State Medical University (Grodno)

Igor A. Iskov, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Oncohematology, Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Fedor N. Karpenko, Doctor of Medical Sciences, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (Minsk)

Olga V. Klimovich, Candidate of Medical Sciences, Deputy Chief Physician for Transfusiology, 6th City Clinical Hospital (Minsk)

Svetlana I. Krivenko, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Deputy Chief Physician for Science, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Tatyana V. Lebedeva, Candidate of Medical Sciences, Scientific Secretary, Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Natalia F. Milanovich, Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Bone Marrow Transplantation, Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Mikhail P. Potapnev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Cell Biotechnologies, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (Minsk)

Inna V. Proleskovskaya, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Chief Freelance Pediatric Oncohematologist of the Ministry of Health of the Republic of Belarus, Deputy Clinical Director of the Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Minsk)

Alexander V. Rozhko, Doctor of Medical Sciences, Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology (Gomel)

Tatyana A. Uglova, Candidate of Medical Sciences, Head of the Clinical Research Laboratory of the Scientific Department, Republican Scientific and Practical Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Minsk)

Svetlana A. Khoduleva, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Internal Diseases No. 1 with courses in endocrinology and hematology Gomel State Medical University (Gomel)

Peer-Reviewed Edition

The journal is included in the Lists of scientific publications of the Republic of Belarus and the Russian Federation for publishing the results of dissertation research.

The journal is included in the databases EBSCO, Ulrich's Periodicals Directory, CNKI, RSCI.

Responsibility for the accuracy of the given facts, quotes, own names and other data, and also for disclosure of the classified information authors bear.

Editorial staff can publish articles as discussion, without sharing the point of view of the author.

Responsibility for the content of advertising materials and publications with the mark "On the Rights of Advertising" are advertisers.

Russia

Editor-in-chief

Oleg A. Rukavitsyn, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Haematological Centre of Burdenko Main Military Clinical Hospital (Moscow)

Editorial Board

Sergey V. Voloshin, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Clinical Department of Chemotherapy of Hemoblastoses, Depressions of Hematopoiesis, and Bone Marrow Transplantation, Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency (Saint Petersburg)

Andrey V. Gubkin, Candidate of Medical Sciences, Chief Hematologist of the Central Directorate of Healthcare – the branch of the JSC "Russian Railways" (Moscow)

Kamil D. Kaplanov, Doctor of Medical Sciences, Head of the Hematology Department, Botkin City Clinical Hospital (Moscow)

Igor V. Paramonov, Doctor of Medical Sciences, Head of the Federal State Budgetary Institution of Science "Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia" (Kirov)

Maria A. Loginova, Doctor of Biological Sciences, Assistant Director for Activities of the Federal Bone Marrow Donor Registry, head of the of Research Laboratory of Applied Immunogenetics of the Federal State Budgetary Institution of Science "Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia"; professor of the Department of Microbiology of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Vyatka State University" (Kirov)

Aligeidar Agaalekper oglu Rahimov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Clinical Transfusiology, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow)

Alexander G. Rumyantsev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, President of the Rogachev Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow)

Nikolay I. Stuklov, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Hospital Therapy with the courses of Endocrinology, Hematology and Clinical Laboratory Diagnostics, Peoples' Friendship University of Russia; Chief Researcher of the Department of High-dose Chemotherapy with the Unit of Bone Marrow Transplantation, P. A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – the branch of the National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow)

Pavel E. Trakhtman, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Transfusiology, Harvesting and Processing of Hematopoietic Stem Cells, D. Rogachev Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow)

Yuri V. Shatokhin, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Hematology, Rostov State Medical University (Rostov-on-Don)

Оригинальные исследования.

Научные публикации

Борисевич М.В., Романцова А.С., Шарипова С.О., Белевцев М.В.
Анемия Фанкони у детей: клинические и генетические особенности 441

Гурьянова И.Е., Любушкин А.В., Полякова Е.А., Ермилова Т.И., Белько Е.А., Вертелко В.Р., Тимохова Ю.В., Жаранкова Ю.С., Белевцев М.В.
Клиническое значение измерения аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q в диагностике рецидивирующего ангионевротического отека без крапивницы 450

Дмитриев В.В., Какунин А.М., Минаковская Н.В., Прудников Д.В., Кирсанова Н.П., Марейко Ю.Е., Наумович М.Г., Янушкевич П.Г., Жерко Л.В., Борисенко М.Б., Мычкова Г.Н.
Свертывание крови в динамике аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток костного мозга у детей 461

Климкович Н.Н., Демиденко А.Н., Руденкова Т.В., Костюк С.А., Алешкевич С.Н., Кухта Т.С.
Метод оценки вероятности развития токсических осложнений при лечении острого лимфобластного лейкоза у детей 473

Мицура Е.Ф., Волкова Л.И., Ромашевская И.П.
Дифференциальная диагностика наследственного сфероцитоза и аутоиммунной гемолитической анемии у детей при помощи гематологических показателей 485

Трубкина А.С., Искров И.А., Лендина И.Ю., Смольникова В.В., Лебедева Т.В.
Маркеры неблагоприятного прогноза у пациентов с миелодиспластическим синдромом: способ прогнозирования исхода заболевания 491

Конопля Н.Е., Савич Т.В., Давыдов Д.А., Быданов О.И., Евмененко А.А., Портянко А.С., Суколинская Е.В., Поляков С.Л.
Результаты лечения мантийноклеточной лимфомы у взрослых пациентов в Республике Беларусь в 2018–2023 гг. 498

Обзоры. Лекции

Гольдинберг Б.М., Дикая Т.В.
Исторические аспекты открытия и изучения полиморфизма антигена RhD серологическими и молекулярно-генетическими методами 515

Цеханович Д.А., Шитикова М.Г., Шарипова С.О., Сакович И.С., Купчинская А.Н., Жаранкова Ю.С., Белевцев М.В.
Т-регуляторные лимфоциты у пациентов с первичными иммунодефицитами: определение, возможности и перспективы 529

Чебыкина Д.А., Моторин Д.В., Семенова Н.Ю., Мотыко Е.В., Кириенко А.Н., Кустова Д.В., Кувшинов А.Ю., Сидоркевич С.В., Мартынкевич И.С.
Раскрывая новые парадигмы: обзор патогенетических механизмов и перспективных методов лечения множественной миеломы 544

Врачебная практика

Писаревская О.Н., Алексеев С.А., Троян В.Н., Мнацаканова И.В., Сарачан Д.А.
Трудности дифференциальной диагностики первичной лимфомы головного мозга с использованием лучевых методов исследования. Клинический случай 564

Бегун И.В., Минаковская Н.В., Пролесковская И.В., Шиманский А.Т., Шутова А.А.
Случай диагностики успешно излеченной веноокклюзионной болезни печени у ребенка с нейробластомой после тандемной трансплантации аутологичных стволовых клеток 572

Организация и контроль

Жибурт Е.Б., Хамитов Р.Г., Похабов Д.С., Тураева Р.Р., Умаров Г.М., Шальгин Л.Д., Кузьмин Н.С., Мадзаев С.Р., Шестаков Е.А.
Новое в трансфузиологии (на конгрессе Международного общества переливания крови в Барселоне) 581

Пост-релиз

Абу-Хадир М.Р.
XII Всероссийская конференция «Инновации в гематологии» 597

Original research.

Scientific publications

Borisevich M., Romantsova A., Sharapova S., Belevtsev M.
 Fanconi Anemia in Children: Clinical and Genetic Features 442

Guryanova I., Liubushkin A., Polyakova E., Ermilova T., Belko E., Vertelko V., Timohova Yu., Zharankova Yu., Belevtsev M.
 The Clinical Value of Measuring Autoantibodies of Circulating Immune Complexes with Complement Component C1q in Diagnosing Recurrent Angioedema without Urticaria 452

Dmitriev V., Kakunin A., Minakovskaya N., Prudnikau D., Kirsanova N., Mareika Y., Naumovich M., Yanushkevich P., Zherko L., Borisenok M., Michkova G.
 Blood Clotting in the Dynamics of Allogeneic Transplantation of Hemopoietic Bone Marrow Stem Cells in Children 462

Klimkovich N., Demidenko A., Rudenkova T., Kostyuk S., Aleshkevich S., Kukhta T.
 Method for Assessing the Probability of Toxic Complications in the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia in Children 474

Mitsura E., Volkova L., Ramashevskaya I.
 The Differential Diagnosis of Hereditary Spherocytosis and Autoimmune Hemolytic Anaemia in Children by Means of Hematological Indicators 486

Trubkina H., Iskrou I., Lenzina I., Smolnikova V., Lebedeva T.
 Markers of Unfavorable Prognosis in Patients with Myelodysplastic Syndrome: Method for Prediction of Disease Outcome 492

Konoplya N., Savich T., Davydov D., Bydanov O., Evmenenko A., Portyanko A., Sukolinskaya E., Polyakov S.
 Mantle Cell Lymphoma Treatment Results in Adult Patients in the Republic of Belarus 2018–2023 499

Reviews. Lectures

Gol'dinberg B., Dzikaya T.
 Historical Aspects of the Discovery and Study of the Polymorphism of the RhD Antigen by Serological and Molecular Genetic Methods 516

Tsekhanovich D., Shitikova M., Sharapova S., Sakovich I., Kupchinskaya A., Zharankova Yu., Belevtsev M.
 T-Regulatory Lymphocytes in Patients with Primary Immunodeficiencies: Definition, Capabilities and Prospects 530

Chebykina D., Motorin D., Semenova N., Motyko E., Kiriynenko A., Kustova D., Kuvshinov A., Sidorkevich S., Martynkevich I.
 Uncovering New Paradigms: a Review of Pathogenetic Mechanisms and Promising Treatments for Multiple Myeloma 545

Practice

Pisarevskaya O., Alekseev S., Troyan V., Mnatsakanova I., Sarachan D.
 The Difficulties of Differential Diagnosis of Primary Lymphoma of the Brain Using Radiation Research Methods. A Clinical Case 565

Begun I., Minakovskaya N., Proleskovskaya I., Shimanskii A., Shutova A.
 A Case of Diagnosis of Cured Hepatic Venous-Occlusive Disease in a Child with Neuroblastoma after Tandem Autologous Stem Cell Transplantation 573

Organization and control

Zhiburt E., Khamitov R., Pokhabov D., Turaeva R., Umarov G., Shalygin L., Kuzmin N., Madzaev S., Shestakov E.
 New in Transfusiology (at the Congress of the International Society of Blood Transfusion in Barcelona) 581



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.4.002>



Борисевич М.В.✉, Романцова А.С., Шарапова С.О., Белевцев М.В.
Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии
и иммунологии, Минск, Беларусь

Анемия Фанкони у детей: клинические и генетические особенности

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Борисевич М.В. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание и редактирование текста статьи; Романцова А.С. – молекулярно-генетическое исследование, сбор и обработка материала, написание и редактирование текста статьи; Шарапова С.О., Белевцев М.В. – написание и редактирование текста статьи.

Подана: 20.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: borisevich10@mail.ru

Резюме

Анемия Фанкони – редкое врожденное мультисистемное заболевание, связанное с нарушениями репарации ДНК.

Цель. Изучить клинические особенности и характер изменений в генах FANCA, C, G.

Материалы и методы. В исследование включено 29 пациентов, медиана возраста которых на дату установления диагноза в 1992–2021 гг. составила 8,4 (1,3–15,6) года. Все пациенты обследовались и лечились в центре детской онкологии, гематологии и иммунологии (Беларусь). Мутационный анализ генов FANCA, FANCC, FANCG был проведен методом SSCP с ресеквенированием ДНК из мононуклеаров периферической крови и костного мозга с последующим сопоставлением результатов с базой данных (www.rockefeller.edu/fanconi/mutate). Для выявления крупных делеций в гене FANCA применяли метод MLPA.

Результаты. Скрининг гена FANCA был проведен у 22 пациентов. Мутации выявлены у 9 человек (40,9%) – 2 крупные делеции, 5 микроделеций (1 с образованием стоп-кодона) и 3 аминокислотные замены. Также у этой группы пациентов были выявлены множественные олигонуклеотидные полиморфизмы (как у пациентов с мутациями, так и без них). Мутационный анализ генов FANCC, FANCG был выполнен еще у 8 и 7 пациентов с анемией Фанкони соответственно. Мутации выявлены у 1 пациента (обнаружены две гетерозиготные замены в гене FANCC).

Заключение. Анемия Фанкони – это заболевание с вариабельной пенетрантностью и генетической гетерогенностью. При данной патологии мутации в генах FANCA не имеют преимущественной локализации в специфических точках гена или явной фенотипической ассоциации. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток является единственным методом окончательной коррекции костномозговой недостаточности, однако при отсутствии донора возможно симптоматическое лечение с использованием андрогенов.

Ключевые слова: анемия Фанкони, дети, аномалии развития, мутации генов

Borisevich M.✉, Romantsova A., Sharapova S., Belevtsev M.
Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology
and Immunology, Minsk, Belarus

Fanconi Anemia in Children: Clinical and Genetic Features

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Borisevich M. – concept and design of research, collection and processing of material, statistical processing, writing and editing of the text of the article; Romantsova A. – molecular genetic research, collection and processing of material, writing and editing of the text of the article; Sharapova S., Belevtsev M. – writing and editing of the text of the article.

Submitted: 20.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: borisevich10@mail.ru

Abstract

Fanconi anemia is a rare congenital, multisystem disease associated with DNA repair disorders. Objective. To assess various features and nature of changes in the FANCA, C, G genes. Materials and methods. The study included 29 patients 8.4 years old (1.3–15.6 years old) were diagnosed in the period 1992–2021. All patients were examined and treated at the Center for Children's Oncology, Hematology and Immunology (Belarus). Mutational analysis of the FANCA, FANCC, FANCG genes was performed by the SSCP method with DNA resequencing from peripheral blood mononuclear cells and bone marrow, with subsequent distribution of the results with the database (www.rockefeller.edu/fanconi/mutate). For participation in large events in the FANCA gene, the MLPA method was used. Results. Screening of the FANCA gene was performed in 22 patients. Abnormalities were detected in 9 patients (40.9%): 2 major deletions, 5 microdeletions (1 with stop codon formation), and 3 missense mutations. Multiple oligonucleotide polymorphisms were also detected in this group of patients. Mutation analysis of the FANCC and FANCG genes was performed in 8 and 7 more patients with Fanconi anemia, respectively. Two heterozygous mutations in the FANCC gene were detected in 1 patient. Conclusion. Fanconi anemia is a disease with variable penetrance and genetic heterogeneity. When these mutations occur in the FANCA genes, there is no strict localization at certain points in the genes or an obvious phenotypic relationship. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the only method of definitive correction of bone marrow failure, however, in the absence of a donor, symptomatic treatment using androgens is possible.

Keywords: Fanconi anemia, children, congenital malformations, gene mutations

■ ВВЕДЕНИЕ

Анемия Фанкони (АФ) – это генетический синдром, клинически проявляющийся множественными врожденными аномалиями развития и тяжелой панцитопенией. АФ по числу случаев (1–9 случаев на 1 миллион населения) является наиболее распространенным синдромом костномозговой недостаточности [1]. Заболеваемость АФ, ее распространенность и частота гетерозиготного носительства зависят



от этнических особенностей состава населения. Изучение генетических основ анемии Фанкони активно проводится последние 30 лет. На сегодняшний день известно более 20 генов, связанных с развитием АФ. Мутации генов FANCA (частота встречаемости около 60%), FANCC (около 15%) и FANCG (около 10%) относятся к наиболее частым группам комплементации A, C, G. Спектр мутаций даже в пределах одной комплементарной группы очень вариабельный.

Врожденные аномалии развития (ВАР) встречаются у 70–75% пациентов с АФ и включают морфометрические нарушения лица и головы, шеи, скелетные аномалии (пороки большого пальца, лучевых костей), задержку роста и развития, патологическую пигментацию кожи («кофейные» пятна), патологию мочеполового тракта, сердца, нарушение слуха и т. д. Классическим сочетанием ВАР является синдром VACTERL-H (название составлено из первых букв пороков, входящих в состав синдрома), включающий пороки развития пищевода, прямой кишки, сердца, почек, позвоночного столба, конечностей и гидроцефалию). Синдром VACTERL-H чаще встречается у пациентов с мутациями в генах FANCI, FANCL [2, 3]. Выраженность ВАР может значительно различаться даже в пределах одной семьи. Характер течения заболевания, клинические проявления могут зависеть также от варианта и локализации мутации.

На сегодняшний день остается до конца не изученным вопрос патофизиологии основных неблагоприятных событий, происходящих у некоторых пациентов с АФ: развитие костномозговой недостаточности и острого лейкоза [4–7]. Поэтому изучение и прогнозирование развития злокачественных новообразований, в том числе после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, прогрессирования АФ с течением времени является актуальным направлением исследований.

При АФ нарушается способность клетки исправлять определенный тип поврежденных ДНК – поперечные межхроматидные сшивки (DNA interstrand crosslink), которые препятствуют работе репликационной вилки для начала нормального процесса репарации ДНК. Поэтому «золотым стандартом» диагностики являются тесты на определение повышенной чувствительности хромосом пациентов с АФ к ДНК-повреждающим агентам – диэпоксидбутану (ДЭБ) и митомицину С (ММС) [8, 9].

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 29 пациентов, медиана возраста которых на дату установления диагноза составила 8,4 (1,3–15,6) года. Диагноз АФ был установлен в период с 1992 по 2021 г. Анализ клинических данных проводился в соответствии с регистрационной картой Международного регистра анемии Фанкони (IFAR, New-York, USA). Для анализа использованы также данные белорусского регистра «Врожденные синдромы костномозговой недостаточности у детей».

Тяжесть костномозговой недостаточности (табл. 1) оценивалась на основании критериев, представленных в международных рекомендациях (Fanconi Anemia Clinical Care Guidelines, 5-й пересмотр) [10].

Для проведения мутационного анализа были проанализированы данные мировой литературы, а также данные, собранные в международной базе мутаций анемии Фанкони (www.rockefeller.edu/fanconi/mutate/). На основании полученной информации осуществлялся подбор праймеров для генов FANCA (43 экзона), FANCC (15 экзона) и FANCG (14 экзона). Праймеры были подобраны с использованием программ Primer3Plus (Untergasser et al., 2007) и Primer-BLAST.

Таблица 1
Критерии тяжести костномозговой недостаточности
Table 1
Criteria for the severity of bone marrow failure

Параметры	Легкая	Умеренная	Тяжелая
Абсолютное число нейтрофилов, $\times 10^9/\text{л}$	<1,5	<1,0	<0,5
Число тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	50–150	<50	<30
Уровень гемоглобина, г/л	$\geq 80^*$	<80	<80

Примечание: * менее нормального уровня по возрасту, но более 80 г/л.

Так как спектр мутаций гена FANCA весьма гетерогенен и обладает высокой полиморфностью – большое количество синонимичных замен, то праймеры подбирались к интронным последовательностям, фланкирующим границы экзонов с учетом известных мутаций и однонуклеотидных полиморфизмов в данных интронных областях.

Генетический анализ был проведен методом SSCP (анализ конформационного полиморфизма однонитевой ДНК) для 43 экзонов гена FANCA, 15 экзонов FANCC и 14 экзонов FANCG с ресеквенированием фрагментов ДНК с нарушенной подвижностью. ДНК получали из мононуклеаров периферической крови и образцов костного мозга путем лизиса (лизирующий буфер: 100 mM NaCl, 10 mM TrisHCl, 25 mM EDTA, 0,5% SDS) и последующей экстракции фенол-хлороформной смесью (фенол : хлороформ : изоамиловый спирт – 25 : 24 : 1, pH=7,5–8,5) пациентов с верифицированным диагнозом АФ. Для выявления крупных делеций в гене FANCA применяли метод мультиплексной амплификации лигазносвязанных проб (multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)) с использованием коммерческого набора SALSA MLPA Kit P031/P032-2 FANCA (MRC-Holland BV, the Netherlands) в соответствии с рекомендациями производителя. Фрагментный анализ MLPA-продуктов выполняли на генетическом анализаторе ABI 3130 GeneticAnalyzer (USA). Компьютерную обработку данных проводили относительно референсных образцов ДНК, полученных от здоровых лиц, с использованием программного обеспечения Peak Scanner (Applied Biosystems).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 29 пациентов отягощенный семейный анамнез был у 2 (2 сестры с установленным диагнозом АФ). Анализ клинических данных проводился на основании изучения результатов лабораторных показателей с определением наличия и степени тяжести костномозговой недостаточности. Согласно международным критериям степени тяжести костномозговой недостаточности пациенты (n=28) разделились следующим образом: легкая степень наблюдалась у 9 (32,0%) пациентов, умеренная – у 4 (14,0%), тяжелая – у 15 (54,0%).

Основные характеристики пациентов группы исследования представлены в табл. 2.

У пациентов группы исследования отмечался широкий спектр врожденных аномалий развития (табл. 3). Информация о малых аномалиях развития была получена из данных физикального осмотра и результатов инструментального обследования. Превалирующими ВАР у пациентов с АФ были аномалии со стороны кожи. Следует отметить, что ВАР изолированно не должны применяться для установления



Таблица 2
Основные характеристики группы исследования (n=29)

Table 2
Main characteristics of the study group (n=29)

Признак	Число пациентов	%
Возраст, годы: медиана (минимум – максимум)	8,4 (1,3–15,6)	
Пол:		
– мужской	14	48,3
– женский	15	51,7
Тест на ломкость хромосом:		
– позитивный	27	93,1
– негативный	0	0
– нет данных	2	6,9
Врожденные аномалии развития:		
– да	24	82,8
– нет	5	17,2
Костномозговая недостаточность*:		
– да	28	96,6
– нет	1	3,4
Зависимость от гемотрансфузий	26	89,7
Семейный анамнез	2	6,9

Примечание: * критерии костномозговой недостаточности базируются на показателях гемограммы (число нейтрофилов, тромбоцитов, уровень гемоглобина) [10].

Таблица 3
Врожденные аномалии развития у пациентов с анемией Фанкони (n=29)

Table 3
Congenital malformations in patients with Fanconi anemia (n=29)

Локализация	Аномалии	n (%)
Кожа	Гипо-/гиперпигментация, «кофейные» пятна, большие веснушки	18 (62,0)
Голова	Микроцефалия, асимметрия черепа, «птичье» лицо, гипоплазия лица, деформация Шпренгеля	11 (37,9)
Глаза	Микрофтальмия, птоз, гипо-/гипертелоризм, эпикантус, косоглазие	9 (31,0)
Костные аномалии	Гипоплазия, аномалия развития / отсутствие большого пальца, дополнительный палец, отсутствие пястных, костей запястья, синдактилия пальцев ноги, вывих обеих бедренных костей, брахидактилия, полидактилия	10 (34,5)
Почки и мочевыводящие пути	Эктопическое расположение, удвоение почки, подковообразная почка, нефроптоз, гипо-/аплазия почки, гидронефроз	8 (27,6)
Гонады	Крипторхизм, гипоплазия яичек, гипоплазия яичников, двурогая матка	8 (27,6)
Сердечно-сосудистая система	Врожденные пороки сердца	4 (13,8)
Желудочно-кишечный тракт	Атрезия пищевода, трахеопищеводный свищ, атрезия ануса, мальротация кишечника	2 (6,9)
	Задержка развития	9 (31,0)
	Задержка роста	18 (62,0)

диагноза АФ. Их необходимо учитывать в комплексе с другими диагностическими критериями.

У всех 27 пациентов, которым выполнялось исследование, тест на ломкость хромосом был положительным с ДЭБ и ММС.

Для генетического анализа гена FANCA были доступны образцы ДНК 22 пациентов, диагностированных и получавших лечение в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» и детском гематологическом отделении УЗ «1-я городская клиническая больница» г. Минска (12 мальчиков и 10 девочек).

Мутации гена FANCA были выявлены у 9 (40,9%) человек (7 мальчиков и 2 девочки): 2 крупные делеции, 5 микроделеций (1 с образованием стоп-кодона) и 3 аминокислотные замены (табл. 4).

Мутации в гене FANCA самые распространенные и встречаются в 60–70% случаев АФ [12]. Их разнообразие очень высоко относительно небольшого числа пациентов и около 40% из них представлены крупными внутригенными делециями [17].

В связи с этим на первом этапе генетической диагностики был выполнен фрагментный анализ для выявления крупных делеций генетического материала в гене FANCA. У 2 пациентов из 13 (15,4%) в образцах ДНК были выявлены крупные потери генетического материала: у одного пациента – делеция 1–6-го экзонов (с.42_522+1_523-1){0}, у другого – 6-го экзона (с.522+1_523-1)_596+1_597-1del). Обе делеции в гомозиготном состоянии. В дальнейшем выполнялось секвенирование фрагментов с нарушенной подвижностью по SSCP для гена FANCA. В результате чего мутации были обнаружены еще у 7 пациентов.

Из 6 обнаруженных мутаций 1 была новая, а еще одна – микроделеция в 38-м экзоне с.3788_3790delTCT – самая распространенная мутация при АФ в мире (20,7%

Таблица 4
Результаты мутационного анализа у пациентов с АФ
Table 4
Results of mutational analysis in patients with FA

№ п/п	Ген	Изменение нуклеотида	Изменение аминокислотной последовательности	Экзон	Количество аллелей	Ссылка
1	FANCA	с.-42_(522+1_523-1){0}	–	1–6	2	[11]
2	FANCA	с.(522+1_523-1)_596+1_597-1del	–	6	2	[12]
3	FANCA	с.3788_3790delTCT	p.Phe1263del	38	2	[13]
4	FANCA	с.3931-3932delAG	p.S1311X	39	1	[14]
5	FANCA	с.1769delC	Мутация со сдвигом рамки считывания	19	1	Новая
6	FANCA	с.3788_3790delTCT с.4124_4125delCA	p.Phe1263del p.T1375Sfs*49	38 41	1 1	[13]
7	FANCA	с.2574C>G	p. Ser858Arg	27	1	[15]
8	FANCA	с.2574C>G	p. Ser858Arg	27	1	[15]
9	FANCA	с.2639G>T	p.R880L	28	1	[12]
10	FANCC	с.1207T>C с.844-1G>C	p.Trp403Arg –	12 i7	1 1	[16]



всех аллелей с мутацией) обнаружена у двух пациентов, причем у одного из пациентов в гомозиготном состоянии (табл. 4). Еще у 2 пациентов выявлена одинаковая мутация с.2574 C>G (p.Ser858Arg).

Помимо мутаций в гене FANCA, у всех 7 пациентов были детектированы однонуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphism (SNP)), у 11 пациентов были обнаружены только SNP, у одного не было обнаружено ни мутаций, ни SNP. В нашей группе пациентов встречались 5 (с.796A>G, с.1715+82T>C, с.3240-42G>A, с.3935-16C>T, с.4261+29T>C) из 10 описанных и наиболее часто встречающихся SNP в гене FANCA [13], причем как в гомозиготном, так и гетерозиготном состоянии, а замена с.4261+29T>C была выявлена у 11 пациентов.

В дальнейшем был проведен мутационный анализ генов FANCC и FANCG у 8 и 7 пациентов с АФ соответственно. В гене FANCC мутации выявлены у 1 пациента (обнаружены две гетерозиготные замены): мутация в 12-м экзоне с.1207 T>C (p.Trp403Arg) в сочетании с крайне редкой мутацией в интроне 7 с.844-1 G>C. В гене FANCG мутации обнаружены не были.

До 75% пациентов с АФ могут отвечать на терапию андрогенами, если лечение начато в дебюте цитопении и есть функциональный резерв для аутологичного восстановления гемопоэза [18]. В нашем исследовании 14 из 29 пациентов получали андрогены. Ответ на андрогены был отмечен у 8 (57,0%) пациентов и характеризовался отсутствием зависимости пациентов от трансфузий компонентами крови. Ответ на андрогены в среднем достигался через 12 месяцев и в большей степени был выражен в отношении эритроцитарного роста.

В настоящее время единственным методом окончательной коррекции костномозговой недостаточности у пациентов с АФ является трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Однако необходимо крайне взвешенно подходить к данному методу лечения, поскольку ТГСК у таких пациентов сопряжена с высокой вероятностью токсической летальности. Крайне токсичными для пациентов с АФ являются высокие дозы циклофосфида и тотального облучения тела, которые применяются в режимах кондиционирования перед ТГСК. В нашей группе исследования у 13 (44,8%) пациентов была проведена аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК): 4 – от родственного совместимого донора (MSD), 6 – от неродственного совместимого донора (MUD), 2 – от частично совместимого неродственного донора (MMUD), 1 – от частично совместимого родственного донора (MMRD). Медиана периода времени от даты установления диагноза до даты трансплантации составила 10 месяцев (1–67 месяцев). Результаты алло-ТГСК представлены в табл. 5.

Медиана длительности наблюдения за пациентами после успешной ТГСК составила 7,7 (2,0–14,4) года. Сегодня благодаря прогрессу в технологии проведения ТГСК долгосрочная общая выживаемость пациентов с АФ достигает 80–88% [15]. К сожалению, отсутствие подходящего донора не позволило нам выполнить ТГСК в качестве терапии первой линии до развития тяжелой костномозговой недостаточности 15 пациентам (в 1 случае был отказ законных представителей несовершеннолетнего).

На сегодняшний день из 29 пациентов живы 13 (44,8%), умерли 14 (48,3%), 2 пациента потеряны из-под наблюдения.

Таблица 5

Результаты аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (n=13)

Table 5

Results of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (n=13)

Пациент, номер	Время до ТГСК, мес.	Тип донора	Исход	Причина исхода
1	43	MUD	Жив	
2	10	MUD	Жив	
3	8	MSD	Жив	
4	11	MSD	Жив	
5	27	MUD	Жив	
6	8	MMUD	Жив	
7	10	MUD	Жив	
8	1	MSD	Жив	
9	3	MUD	Жив	
10	67	MUD	Умер	Отсутствие приживления трансплантата
11	18	MMUD	Умер	TRM
12	48	MMRD	Умер	TRM
13	2	MSD	Отсутствие приживления трансплантата после 2-й ТГСК*	

Примечания: MSD – родственный совместимый донор, MUD – неродственный совместимый донор, MMUD – частично совместимый неродственный донор, MMRD – частично совместимый родственный донор, TRM – смерть, связанная с лечением; * пациент потерян из-под наблюдения спустя 1,5 года после ТГСК.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анемия Фанкони фенотипически и генотипически является гетерогенным заболеванием. Наиболее частыми фенотипическими аномалиями у пациентов с АФ являются неоднородная меланиноподобная пигментация кожи («кофейные» пятна), морфометрические нарушения лица и головы, шеи и аномалии глаз.

Генетический анализ пациентов с АФ выявил широкий мутационный спектр гена FANCA. Большинство мутаций представляли собой небольшие делеции и точечные замены.

Выявление конкретных патогенных вариантов гена имеет решающее значение для определения носителей мутаций и поиска подходящих доноров для трансплантации костного мозга. При наличии HLA-совместимого донора ТГСК должна рассматриваться как терапия 1-й линии до развития тяжелой костномозговой недостаточности. С целью увеличения продолжительности и качества жизни при невозможности выполнения ТГСК могут быть рассмотрены консервативные методы лечения, в частности использование андрогенов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bagby G.C. (2016) Multifunctional Fanconi proteins, inflammation and the Fanconi phenotype. *EBioMedicine*, vol. 8, pp. 10–11.
2. Vetro A., Iacone M., Limongelli I. et al. (2015) Loss-of-Function FANCL Mutations Associate with Severe Fanconi Anemia Overlapping the VACTERL Association. *Human Mutation*, vol. 36, no 5, pp. 562–568.
3. Mikat B., Roll C., Schindler D., et al. (2016) X-linked recessive VACTERL-H due to a mutation in FANCB in a preterm boy. *Clinical Dysmorphology*, vol. 25, no 2, pp. 73–76.



4. Langevin F. et al. (2011) Fancd2 counteracts the toxic effects of naturally produced aldehydes in mice. *Nature*, vol. 475, no 7354, pp. 53–58.
5. Garaycochea J.I. et al. (2012) Genotoxic consequences of endogenous aldehydes on mouse haematopoietic stem cell function. *Nature*, vol. 489, no 7417, pp. 571–575.
6. Pontel L.B. et al. (2015) Endogenous Formaldehyde Is a Hematopoietic Stem Cell Genotoxin and Metabolic Carcinogen. *Molecular Cell*, vol. 60, no 1, pp. 177–188.
7. Hira A. et al. (2013) Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. *Blood*, vol. 122, no 18, pp. 3206–3209.
8. Oostra A.B., Nieuwint A.W., Joenje H. et al. (2012) Diagnosis of fanconi anemia: Chromosomal breakage analysis. *Anemia*, vol. 2012, Article ID: 238731.
9. Auerbach A.D. (2015) Diagnosis of Fanconi anemia by diepoxybutane analysis. *Current Protocols in Human Genetics*, vol. 85, no 1, pp. 8.7.1–8.7.17.
10. Fanconi Anemia Clinical Care Guidelines, Fifth Edition 2020. Fanconi Anemia Research Fund. Available at: https://www.fanconi.org/images/uploads/other/Fanconi_Anemia_Clinical_Care_Guidelines_5thEdition_web.pdf (Accessed on June 16, 2022).
11. Levrin O. et al. (2005) Spectrum of sequence variations in the FANCA gene: an International Fanconi Anemia Registry (IFAR) study. *Human Mutation*, vol. 25, no 2, pp. 142–149.
12. Auerbach A.D. The Rockefeller University Fanconi anemia mutation database, 2015. Available at: <https://www2.rockefeller.edu/fanconi/>
13. Levrin O., Erlich T., Magdalena N. et al. (1997) Sequence variation in the Fanconi anemia gene FAA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 94, pp. 13051–13056.
14. Kimble D.C., Lach F.P., Gregg S.Q. et al. (2018) A comprehensive approach to identification of pathogenic FANCA variants in Fanconi anemia patients and their families. *Human Mutation*, vol. 39, no 2, pp. 237–254.
15. Wijker M., Morgan N.V., Herterich S. et al. (1999) Heterogeneous spectrum of mutations in the Fanconi anaemia group A gene. *European Journal of Human Genetics*, vol. 7, no 1, pp. 52–59.
16. Pinto F.O., Leblanc T., Chamouset D., et al. (2009) Diagnosis of Fanconi anemia in patients with bone marrow failure. *Haematologica*, vol. 94, no 4, pp. 487–495.
17. Morgan N.V., Tipping A.J., Joenje H., et al. (1999) High frequency of large intragenic deletions in the Fanconi anemia group A gene. *American Journal of Human Genetics*, vol. 65, no 5, pp. 1330–1341.
18. Thakar M.S., Kurre P., Storb R. et al. (2011) Treatment of Fanconi anemia patients using fludarabine and low-dose TBI, followed by unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, vol. 46, no 4, pp. 539–544.



Гурьянова И.Е.¹✉, Любушкин А.В.¹, Полякова Е.А.¹, Ермилова Т.И.¹, Белько Е.А.²,
Вертелко В.Р.¹, Тимохова Ю.В.¹, Жаранкова Ю.С.¹, Белевцев М.В.¹

¹ Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии
и иммунологии, Минск, Беларусь

² Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Клиническое значение измерения аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q в диагностике рецидивирующего ангионевротического отека без крапивницы

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Гурьянова И.Е., Белевцев М.В.; сбор материала – Гурьянова И.Е., Жаранкова Ю.С., Полякова Е.А.; обработка материала и выполнение лабораторных тестов – Гурьянова И.Е., Любушкин А.В., Полякова Е.А., Тимохова Ю.В., Ермилова Т.И., Белько Е.А.; статистическая обработка данных – Гурьянова И.Е., Вертелко В.Р., Ермилова Т.И., Любушкин А.В.; написание текста – Гурьянова И.Е., Белько Е.А.; редактирование – Гурьянова И.Е., Жаранкова Ю.С., Белевцев М.В.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке ГНТП «Фундаментальные и прикладные науки – медицине, 2016–2020 годы» (подпрограмма «Диагностика и терапия заболеваний») (№ госрегистрации 20190517).

Подана: 12.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: guryanovairina1985@gmail.com

Резюме

Введение. Ангиоотек представляет собой состояние, обусловленное повышенной локальной проницаемостью подкожных и подслизистых капилляров, а также посткапиллярных венул, что приводит к локальному выходу плазмы в ответ на высвобождение вазоактивных медиаторов. Медиаторы высвобождаются при активации тучных клеток и/или базофилов либо при чрезмерной активации системы кинин-калликреина. Наиболее часто ангиоотеки обусловлены активацией тучных клеток, однако разнообразие медиаторов (гистамин, серотонин и др.) приводит к вариативности патогенеза. В диагностическом алгоритме рецидивирующих ангиоотечков в Беларуси применяют иммунологические тесты, оценивающие активность врожденной иммунной системы, которая направлена на уничтожение клеток патогенных микроорганизмов и вирусов, что не всегда позволяет адекватно оценить реальную активность иммунной системы.

Цель. Оценить эффективность клинического применения метода для выявления аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q на этапе первичной диагностики рецидивирующих ангиоотечков.

Материалы и методы. В исследовании включен 131 пациент с рецидивирующими ангиоотеками без крапивницы (37,4% пациентов мужского пола и 62,6% женского). В рамках исследования определяли уровни компонентов системы комплемента C3 и C4 турбидиметрическим методом; C1-ингибитора – нефелометрическим методом;



аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом C1q – методом иммуноферментного анализа; аллельные варианты в гене SERPING1 (регионы всех экзонов, интронных областей и промоторной области), в 9-м экзоне гена F12 и в 9-м экзоне гена PLG – методом высокопроизводительного секвенирования.

Результаты и обсуждение. У 21 из 131 пациента выявлен положительный результат тестов на наличие специфических аутоантител к C1q-компоненту системы комплемента с медианой 50,27 ОЕд/мл. Среди пациентов с положительными результатами тестов на наличие специфических аутоантител к C1q-компоненту системы комплемента у 7 наблюдалось изменение показателей исследуемых компонентов иммунной системы, в то время как у 14 пациентов показатели находились в пределах нормы. У 20 из 131 пациента обнаружены аллельные варианты, ассоциированные с наследственным ангионевротическим отеком, все варианты детектированы в гене SERPING1. Все пациенты с генетически подтвержденным ангионевротическим отеком демонстрировали характерные результаты тестов на определение компонентов системы комплемента C4 и C1-ингибитора; у 19 из 20 пациентов не выявлено аутоантител к C1q-компоненту системы комплемента. Положительный результат на наличие антител к C1q у одного пациента с ангионевротическим отеком коррелировал с наличием сопутствующего аутоиммунного заболевания.

Заключение. Диагностическая чувствительность метода для выявления аутоантител к C1q-компоненту системы комплемента в нашем исследовании составила 71,4%, диагностическая специфичность – 99,0%, диагностическая эффективность – 93,1%, предсказательная ценность положительного результата – 95,2%, предсказательная ценность отрицательного результата – 92,7%. Полученные данные демонстрируют высокую диагностическую ценность предложенного теста при определении направления дальнейших углубленных исследований в диагностике рецидивирующих ангиоотечков без крапивницы.

Ключевые слова: компонент системы комплемента C1q, C1-ингибитор, наследственный ангионевротический отек, рецидивирующий ангиоотек

Guryanova I.¹✉, Liubushkin A.¹, Polyakova E.¹, Ermilova T.¹, Belko E.², Vertelko V.¹, Timohova Yu.¹, Zharankova Yu.¹, Belevtsev M.¹

¹ Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

² Belarusian State University, Minsk, Belarus

The Clinical Value of Measuring Autoantibodies of Circulating Immune Complexes with Complement Component C1q in Diagnosing Recurrent Angioedema without Urticaria

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: study concept and design – Guryanova I., Belevtsev M.; data collection – Guryanova I., Zharankova Yu., Polyakova E.; data processing and laboratory testing – Guryanova I., Liubushkin A., Polyakova E., Timohova Yu., Ermilova T., Belko E.; statistical data analysis – Guryanova I., Vertelko V., Ermilova T., Liubushkin A.; writing – Guryanova I., Belko E.; editing – Guryanova I., Zharankova Yu., Belevtsev M.

Funding. This work was supported by the State Research and Technology Program "Fundamental and Applied Sciences for Medicine, 2016–2020" (subprogram "Diagnosis and Therapy of Diseases") (State Registration No. 20190517).

Submitted: 12.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: guryanovairina1985@gmail.com

Abstract

Introduction. Angioedema is a condition characterized by increased local permeability of subcutaneous and submucosal capillaries, as well as postcapillary venules, leading to localized plasma extravasation in response to the release of vasoactive mediators. These mediators are released upon activation of mast cells and/or basophils or excessive activation of the kinin-kallikrein system. Mast cell activation is the most common cause of angioedema; however, the variety of mediators (such as histamine, serotonin, etc.) results in variability in the pathogenesis. In the diagnostic algorithm for recurrent angioedema in Belarus, immunological tests are used to assess the activity of the innate immune system aimed at eliminating cells of pathogenic microorganisms and viruses, which does not always provide an adequate assessment of the actual activity of the immune system.

Purpose. To evaluate the clinical application efficacy of a method for detecting autoantibodies against circulating immune complexes containing the C1q complement component in the initial diagnosis of recurrent angioedema.

Materials and methods. The study involved 131 patients with recurrent angioedema without urticaria (37.4% male and 62.6% female). Levels of complement system components C3 and C4 were measured using the turbidimetric method; C1-inhibitor was assessed using the nephelometric method; autoantibodies against circulating immune complexes containing the C1q component were detected using an enzyme-linked immunosorbent assay. Allelic variants in the SERPING1 gene (covering all exon regions, intronic areas, and the promoter region), in exon 9 of the F12 gene, and in exon 9 of the PLG were analyzed using next-generation sequencing.

Results. Positive results for specific autoantibodies to the C1q component of the complement system were identified in 21 out of 131 patients, with a median concentration of 50.27 IU/ml. Of these, 7 exhibited changes in other immune system components, while



14 had normal values. Allelic variants associated with hereditary angioedema (HAE) were found in 20 patients, all in the SERPING1 gene. All patients with genetically confirmed HAE displayed characteristic test results for complement system components C4 and C1-inhibitor; 19 of the 20 patients did not have autoantibodies against the C1q component. The presence of C1q autoantibodies in one HAE patient correlated with a concurrent autoimmune disease.

Conclusion. The diagnostic sensitivity of the method for detecting autoantibodies to the C1q component was 71.4%, with a specificity of 99.0%, diagnostic accuracy of 93.1%, positive predictive value of 95.2%, and negative predictive value of 92.7%. These findings underscore the high diagnostic value of this test in guiding further diagnostic approach for recurrent angioedema without urticaria.

Keywords: C1q complement component, C1-inhibitor, hereditary angioedema, recurrent angioedema

■ ВВЕДЕНИЕ

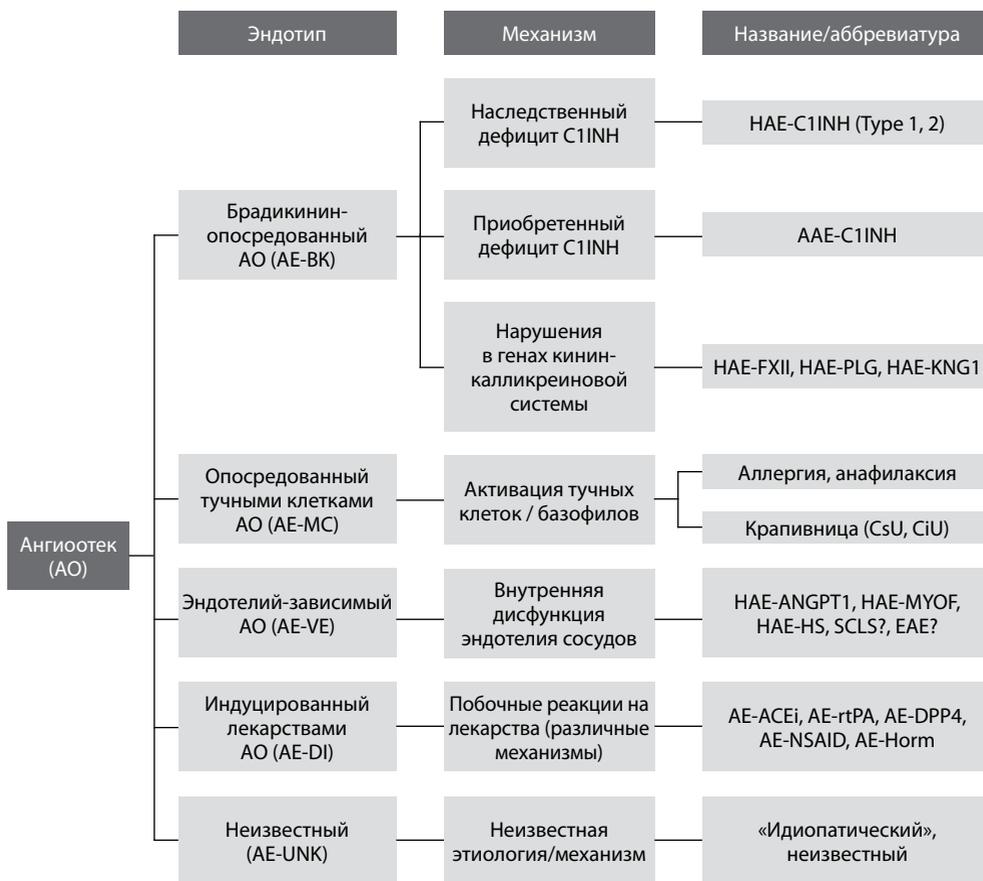
Ангионевротический отек (ангиоотек) представляет собой отек кожи или слизистых оболочек, обусловленный повышенной локальной проницаемостью в подкожных и/или подслизистых капиллярах и посткапиллярных венулах [1]. Это состояние возникает вследствие локальной экстравазации плазмы, вызванной высвобождением vasoактивных медиаторов при активации тучных клеток и/или базофильных гранулоцитов, воздействием брадикинина или иных механизмов, связанных, например, с дисфункцией процессов, контролирующей проницаемость сосудистой стенки [2]. Ангиоотеки являются гетерогенной группой состояний, включающей наследственные и приобретенные формы, которые могут как проявляться в виде единичных эпизодов, так и рецидивировать. Ангиоотек иногда может сопровождаться волдырями. Ангиоотек может быть вызван различными этиологическими факторами, включая аллергические реакции, генетические нарушения (например, наследственный ангионевротический отек – НАО), воспалительные процессы, воздействие медикаментов и физические триггеры.

Наиболее часто ангиоотеки развиваются вследствие активации тучных клеток. Разнообразие медиаторов, высвобождаемых при активации тучных клеток (гистамин, серотонин, гепарин, интерлейкины, простагландины, лейкотриены, фактор активации тромбоцитов, фактор некроза опухоли, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, триптаза, химаза, карбоксипептидаза и др.), обуславливает сложность и вариабельность этиопатогенетической структуры данных ангиоотеков [3].

Учитывая накопленный массив данных об ангиоотеках, была предложена их новая таксономия и номенклатура, что поможет упростить их исследование и клинический мониторинг пациентов (см. рисунок) [3].

Разнообразие механизмов, лежащих в основе ангиоотеков, требует проведения обширного комплекса диагностического обследования для идентификации причинных факторов. Говоря о НАО, 99% случаев обусловлены недостаточностью C1-ингибитора, вызванной аллельными вариантами в гене SERPING1, который

Клиническое значение измерения аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q в диагностике рецидивирующего ангионевротического отека без крапивницы



Классификационная схема ангиоотеков в зависимости от эндотипов и механизмов их возникновения

Примечания: C1INH – C1-ингибитор; HAE-C1INH – HAO, связанный с дефицитом C1-ингибитора; AAE-C1INH – ангиоотек, связанный с приобретенным дефицитом C1-ингибитора; HAE-FXII – HAO, вызванный нарушениями в гене F12; HAE-PLG – HAO, вызванный нарушением в гене PLG; HAE-KNG1 – HAO, вызванный нарушением в гене KNG1; CsU – хроническая спонтанная крапивница; CiU – хроническая индуцированная крапивница; HAE-ANGPT1 – HAO, вызванный нарушением в гене ANGPT1; HAE-MYOF – HAO, вызванный нарушением в гене MYOF; HAE-HS – HAO, вызванный нарушением в гене HS3ST6; SCLS – синдром повышенной проницаемости капилляров; EAE – эпизодический ангионевротический отек с эозинофилией (синдром Глейха); ACEi – ингибитор ангиотензинпревращающего фермента; rtPA – рекомбинантный тканевый активатор пламиногена; DPP4 – ингибитор дипептидилпептидазы-4 (ситаглиптин, саксаглиптин, линаглиптин, вилдаглиптин и алоглиптин – дополнительное лечение сахарного диабета 2-го типа); NSAID – нестероидные противовоспалительные препараты (аспирин, ибупрофен).

Classification scheme of angioedemas based on endotypes and mechanisms of onset

Notes: C1INH – C1-inhibitor; HAE-C1INH – Hereditary Angioedema (HAE) associated with C1-inhibitor deficiency; AAE-C1INH – Acquired Angioedema associated with C1-inhibitor deficiency; HAE-FXII – HAE caused by variants in the F12 gene; HAE-PLG – HAE caused by variant in the PLG gene; HAE-KNG1 – HAE caused by variant in the KNG1 gene; CsU – Chronic Spontaneous Urticaria; CiU – Chronic Inducible Urticaria; HAE-ANGPT1 – HAE caused by variant in the ANGPT1 gene; HAE-MYOF – HAE caused by variant in the MYOF gene; HAE-HS – HAE caused by variant in the HS3ST6 gene; SCLS – Systemic Capillary Leak Syndrome; EAE – Episodic Angioedema with Eosinophilia (Gleich's syndrome); ACEi – Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor; rtPA – Recombinant Tissue Plasminogen Activator; DPP4 – Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors (e.g., Sitagliptin, Saxagliptin, Linagliptin, Vildagliptin, Alogliptin – additional treatment for type 2 diabetes); NSAID – Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (e.g., Aspirin, Ibuprofen).



кодирует белок С1-ингибитора (OMIM #606860) [4]. НАО, связанный с дефицитом С1-ингибитора, подразделяется на два типа: количественный дефицит С1-ингибитора (НАО тип I) и функциональный дефицит С1-ингибитора (НАО тип II). Лабораторная диагностика у пациентов с НАО, связанным с дефицитом С1-ингибитора, обычно выявляет снижение уровня компонента системы комплемента С4 на 50% и более от нижней границы нормы независимо от типа. При этом уровень С1-ингибитора в сыворотке крови при НАО тип I обычно снижен примерно на 50% от нижнего предела референсных значений, тогда как при НАО тип II уровень С1-ингибитора детектируется в пределах нормы или может быть повышенным в 2–3 раза [5].

Около 1% всех случаев НАО приходится на пациентов без дефицита С1-ингибитора. В литературных источниках описано около 700 таких случаев. Они классифицируются в зависимости от ассоциированных аллельных вариантов в шести различных генах (F12, PLG, ANGPT1, KNG1, MYOF, HS3ST6) или как НАО неизвестного происхождения [6]. Для НАО без дефицита С1-ингибитора использование тестов для определения уровня компонентов системы комплемента С4 и С1-ингибитора не позволяет подтвердить диагноз, так как эти показатели будут находиться в пределах нормы [5]. В таких случаях молекулярно-генетические исследования являются наиболее важным инструментом для постановки диагноза.

Несмотря на то что известно о шести различных генах, ассоциированных с НАО, аллельные варианты только в генах F12 и PLG встречаются в разных семьях по всему миру. В литературе описано 186 семей с FXII-НАО, при этом все аллельные варианты локализованы в 9-м экзоне, где более чем в 95% случаев обнаруживается вариант p.Thr328Lys, а оставшиеся случаи представляют собой еще три аллельных варианта (p.Thr328Arg, c.971_1018+24del72 и p.Pro298_Pro303dup) [6]. Эти аллельные варианты повышают вероятность аутоактивации профермента FXII, что приводит к избыточному образованию брадикинина через кинин-калликреиновую систему, а также к ускоренной активации фактора свертывания крови XII плазмином [7]. В случае PLG-НАО у 146 пациентов из Германии, Франции, Болгарии, Испании, США и Японии обнаружен вариант p.Lys330Glu, локализованный в 9-м экзоне гена PLG, приводящий к синтезу аномального плазминогена с увеличенным периодом полураспада [6].

Поскольку в патогенезе ангиоотечек при НАО ключевую роль играет брадикинин, ангиоотеки у таких пациентов не демонстрируют адекватного ответа на стандартную терапию, включая системные глюкокортикоиды, антигистаминные препараты и адреналин, которые применяются для лечения ангиоотечек, вызванных медиаторами активации тучных клеток, а требуют иной, патогенетически обоснованной терапии [8]. В отсутствие установленного диагноза пациенты с НАО подвержены повышенному риску развития более тяжелой формы отека и летального исхода [9]. Уровень смертности от отека гортани среди недиагностированных пациентов с НАО составляет около 30%, тогда как у пациентов с установленным диагнозом он лежит в пределах 1–3% [10, 11]. В связи с этим точная диагностика имеет критически важное значение для пациентов с НАО.

Учитывая низкую пенетрантность НАО, пациентам с клинической картиной отеков, схожих с брадикинин-опосредованными, и уровнями компонентов системы комплемента С4 и С1-ингибитора, отличающимися от критериев для НАО, связанного с дефицитом С1-ингибитора, в Беларуси назначают генетическое обследование

генов F12 и PLG для дифференциальной диагностики НАО без дефицита C1-ингибитора от других форм рецидивирующих ангиоотечков без крапивницы. Поскольку частота встречаемости НАО без дефицита C1-ингибитора составляет приблизительно 1:1 000 000 населения [6], в то время как, например, хроническая спонтанная крапивница, сопровождающаяся только отеками, ориентировочно встречается с частотой 1:5000 населения [12, 13], становится ясно, что использование дорогостоящего генетического тестирования как метода исключения диагноза НАО без дефицита C1-ингибитора является нецелесообразным.

Таким образом, существует очевидная необходимость внедрения в рутинную практику учреждений здравоохранения Беларуси дополнительного биомаркера, который будет экономически доступным, эффективным и простым в применении, что позволит уменьшить количество пациентов, направляемых на генетическую диагностику. Мы предлагаем включить в диагностический алгоритм тест на определение аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q. Это может существенно повысить точность диагностики этиологических факторов рецидивирующих ангиоотечков без крапивницы и оптимизировать использование ресурсов здравоохранения. Система комплемента играет важную роль в удалении патогенов и поврежденных клеток из организма, однако ее активация происходит не при всех заболеваниях. В то же время при инфекционных, ревматических и аутоиммунных заболеваниях могут формироваться аутоантитела, которые взаимодействуют с эндогенными белками, такими как C1q [14]. Это взаимодействие может способствовать повреждению тканей и органов в результате хронического воспалительного процесса, что, в свою очередь, может привести к возникновению рецидивирующих ангиоотечков.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность клинического применения метода для выявления аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q на этапе первичной диагностики рецидивирующих ангиоотечков.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включен 131 пациент, 37,4% пациентов мужского пола (n=49) и 62,6% женского (n=82), направленных на консультацию в Центр детской онкологии, гематологии и иммунологии с анамнезом рецидивирующих ангиоотечков без крапивницы. Исследования проводились с 2017 по декабрь 2023 г. Всем пациентам (n=131) осуществляли определение уровней компонентов системы комплемента C3, C4 и C1-ингибитора, аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом комплемента C1q, а также поиск аллельных вариантов в генах SERPING1, F12 и PLG. Все пациенты находились в состоянии ремиссии на момент взятия образцов крови: кожные покровы были чистыми, без признаков дерматита или воспаления. Информированное согласие получено у всех пациентов и/или их официальных опекунов.

Определение количества компонентов системы комплемента C3 и C4 проводилось с использованием турбидиметрического метода. Для исследования применялись наборы Complement C3, C4 (Abbott, США) на анализаторе Konelab Primer 60i (Thermo Scientific, США).



Уровень С1-ингибитора определяли в сыворотке крови на специализированном компактном анализаторе Dade Behring BN ProSpec (Siemens, Германия) с использованием нефелометрического метода и набора N Antiserum to Human C1-Inhibitor (Siemens, Германия).

Определение аутоантитела к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента С1q проводилось методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора CIC-C1q ELISA (IgG) (Euroimmun, Германия) на анализаторе Sunrise (Tecan, Швейцария).

Определение аллельных вариантов всей последовательности гена SERPING1 (регионы всех экзонов, интронных областей и промоторной области), 9-го экзона гена F12 и 9-го экзона гена PLG осуществлялось методом высокопроизводительного секвенирования на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора Nextera XT (Illumina, США). Для выявления крупных генетических изменений использовали метод мультиплексной проба-зависимой лигазной реакции (MLPA) с применением набора SALSA MLPA Probemix P047 (MRC Holland, Нидерланды), который включает олигонуклеотидные зонды для генов SERPING1 и F12.

Диагностическая значимость использования теста на определение аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента С1q в алгоритме диагностики рецидивирующих ангиоотечек без крапивницы оценивалась на основе расчета чувствительности, специфичности, диагностической эффективности, а также положительной и отрицательной предсказательной ценности [15].

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст пациентов на момент сдачи биологического материала составил $22,7 \pm 17,3$ года, варьируясь от 3 месяцев до 68 лет (для женщин – $26,3 \pm 18,3$ года, для мужчин – $16,4 \pm 13,5$ года). У 21 из 131 пациента выявлен положительный результат тестов на наличие специфических аутоантител к С1q-компоненту системы комплемента с медианой 50,27 ОЕд/мл (диапазон 20,2–163,98 ОЕд/мл). При дальнейшем обследовании у 11 из 21 пациента были выявлены аутоиммунные, инфекционные или хронические воспалительные процессы (см. таблицу).

Среди пациентов с положительным результатом тестов на наличие специфических аутоантител к С1q-компоненту системы комплемента у 7 выявлено снижение/повышение показателей исследуемых компонентов иммунной системы, не соответствующее критериям для НАО, связанного с дефицитом С1-ингибитора. Это свидетельствует о наличии активации системы комплемента, которая может быть вызвана патологическими состояниями, способствующими запуску механизма врожденного иммунного ответа, с повышенной выработкой или ускоренной деградацией белков системы комплемента.

В то же время среди пациентов с положительным результатом на наличие специфических аутоантител к С1q-компоненту системы комплемента у 14 пациентов исследуемые показатели находились в пределах нормальных значений. Это объясняется тем, что аутоантитела к С1q могут формироваться в ответ на собственные антигены организма и не всегда связаны с дефицитом или нарушением функции системы комплемента. Кроме того, хроническая инфекция или аутоиммунное воспаление не обязательно приводят к изменению уровней С3 и С4, но могут вызывать выработку специфических аутоантител [16]. Это подчеркивает необходимость внедрения теста

Клиническое значение измерения аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q в диагностике рецидивирующего ангионевротического отека без крапивницы

Демографические данные и результаты лабораторных исследований у пациентов с повышенными уровнями аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q
Demographic data and laboratory findings in patients with elevated levels of autoantibodies to circulating immune complexes containing complement component C1q

№	Возраст (лет)	Семейный анамнез	C3	C4	C1-инг.	C1q (ОЕд/мл)	SERPING1	F12	PLG	Результаты доп. обследования
1	4	Нет	N	N	N	46,28	Нет	Нет	Нет	Острый энтероколит смешанной этиологии
2	4	Нет	N	N	N	59,30	Нет	Нет	Нет	Нет данных
3	12	Нет	N	N	N	20,28	Нет	Нет	Нет	Нет данных
4	16	Нет	L	N	N	49,81	Нет	Нет	Нет	СКВ
5	12	Нет	N	N	N	21,057	Нет	Нет	Нет	Нет данных
6	47	Есть	L	VL	VL	163,98	Есть, НАО тип I	Нет	Нет	СКВ
7	14	Нет	N	N	N	154	Нет	Нет	Нет	Хронический воспалительный процесс, вызванный инфекциями
8	7	Есть	N	N	H	74,3	Нет	Нет	Нет	Нет данных
9	14	Нет	N	N	N	81,6	Нет	Нет	Нет	Нет данных
10	32	Нет	N	N	N	20,20	Нет	Нет	Нет	Нет данных
11	9	Нет	N	L	N	42,41	Нет	Нет	Нет	Нет данных
12	56	Нет	VL	L	N	71,74	Нет	Нет	Нет	Реактивная лимфаденопатия шейных лимфатических узлов
13	18	Нет	VL	VL	VL	32,64	Нет	Нет	Нет	Цитопенический синдром
14	16	Нет	N	N	N	96,00	Нет	Нет	Нет	Аутоиммунный тиреоидит Хашимото
15	14	Нет	N	N	N	58,27	Нет	Нет	Нет	Реактивная артралгия. Энцефалит. Вирусная инфекция
16	7	Нет	N	N	N	74,37	Нет	Нет	Нет	Нет данных
17	8	Нет	N	N	N	48,89	Нет	Нет	Нет	Системный васкулит
18	9	Нет	H	N	N	50,27	Нет	Нет	Нет	Нет данных
19	7	Нет	N	N	N	150,93	Нет	Нет	Нет	Антифосфолипидный синдром
20	9	Нет	N	N	N	27,89	Нет	Нет	Нет	Нет данных
21	33	Нет	L	N	N	30,52	Нет	Нет	Нет	Ревматоидный артрит

Примечания: N – результат находится в диапазоне нормальных значений; L – результат ниже нормы, но не достигает снижения на 50% от нижней границы нормы; VL – результат снижен на 50% и более от нижней границы нормы; H – результат выше нормы, но не достигает превышения на 50% от верхней границы нормы; положительный результат на наличие аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q при $\geq 20,0$ ОЕд/мл.

на определение аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента C1q в существующий диагностический алгоритм.

В ходе исследования молекулярно-генетическая диагностика не выявила у пациентов аллельных вариантов, ассоциированных с НАО без дефицита C1-ингибитора. У 20 из 131 пациента выявлены аллельные варианты, ассоциированные с НАО,



все варианты детектированы в гене SERPING1. Все пациенты с генетически подтвержденным НАО, связанным с дефицитом С1-ингибитора, демонстрировали характерные для заболевания результаты тестов по определению компонентов системы комплемента С3, С4 и С1-ингибитора. У 19 из 20 пациентов не было обнаружено аутоантител к С1q-компоненту системы комплемента. Положительный результат присутствия аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента С1q у пациента с НАО (пациент № 6, см. таблицу) коррелировал с наличием сопутствующего аутоиммунного заболевания – системной красной волчанки (СКВ).

У пациента № 13 (см. табл.) выявлено снижение уровня С4 и С1-ингибитора, схожее с критериями для НАО, связанного с дефицитом С1-ингибитора, но клинически значимых отличий от референсной последовательности в гене SERPING1 обнаружено не было. Аргументами к подтверждению отсутствия НАО у пациента № 13 также служат: снижение уровня компонента системы комплемента С3, который у пациентов с НАО, как правило, остается в пределах нормы; диагноз «цитопенический синдром».

Суммируя полученные результаты, диагностическая чувствительность метода по определению аутоантител к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента С1q в нашем исследовании составила 71,4%, диагностическая специфичность – 99,0%, диагностическая эффективность – 93,1%, предсказательная ценность положительного результата – 95,2%, предсказательная ценность отрицательного результата – 92,7%.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ангиоотек является сложным и многогранным заболеванием, требующим комплексного подхода к диагностике и лечению. Результаты данного исследования демонстрируют высокую диагностическую ценность предложенного теста при определении направления углубленных исследований в диагностике рецидивирующих ангиоотеков без крапивницы. Применение этого теста в клинической практике позволит более точно определять этиологию отеков и послужит эффективным инструментом для дифференциальной диагностики у пациентов с клинической картиной отеков, схожих с брадикинин-опосредованными, и уровнями компонентов системы комплемента С4 и С1-ингибитора, не соответствующими критериям для НАО, связанного с дефицитом С1-ингибитора.

В ходе исследования не выявлено случаев НАО без дефицита С1-ингибитора, что подтверждает редкость данного состояния. Установлено, что аутоантитела к циркулирующим иммунным комплексам с компонентом системы комплемента С1q могут определяться у пациентов как с признаками активации системы комплемента, так и без явных изменений. Отсутствие изменений в лабораторных показателях уровней компонентов системы комплемента С3, С4 и С1-ингибитора может указывать на возможное наличие скрытых хронических воспалительных процессов, инфекционных или аутоиммунных заболеваний. Этот факт подчеркивает важность использования дополнительного диагностического биомаркера для установления этиологии ангиоотеков и выбора оптимальной стратегии лечения.

Таким образом, включение этого теста в диагностический алгоритм позволит улучшить дифференциальную диагностику и оптимизировать использование диагностических ресурсов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Piñero-Saavedra M., Gonzalez-Quevedo T. The genetics of hereditary angioedema: a review. *J. of Rare Dis. Res. & Treat.* 2017;2(4):14–19.
2. Farkas H., Balla Z., Riedl M.A. Differentiating histaminergic and nonhistaminergic angioedema with or without urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2022;150(6):1405–1409. doi: 10.1016/j.jaci.2022.04.015
3. Maurer M. *Idiopathic non-histaminergic angioedema: diagnostic and therapeutic strategies.* EAACI Hybrid Congress 2023: 1–3 July. Available at: <https://virtual.eaaci.org> (accessed July 3, 2022).
4. Maas C., López-Lera A. Hereditary angioedema: insights into inflammation and allergy. *Mol Immunol.* 2019;112:378–386. doi: 10.1016/j.molimm.2019.06.017
5. Maurer M., et al. The international WAO/EAACI guideline for the management of hereditary angioedema – The 2021 revision and update. *Allergy.* 2022;77(7):1961–1990. doi: 10.1111/all.15214
6. Bork K., et al. Clinical features of genetically characterized types of hereditary angioedema with normal C1 inhibitor: a systematic review of qualitative evidence. *Orphanet J Rare Dis.* 2020;15(1):289. doi: 10.1186/s13023-020-01570-x
7. Björkqvist J., et al. Defective glycosylation of coagulation factor XII underlies hereditary angioedema type III. *J. Clin. Invest.* 2015;125(8):3132–3146. doi: 10.1172/JCI81220
8. Pampura A.N., Vitkovskaya I.P., Fomina D.S. Routing principles for patients with hereditary angioedema. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics.* 2021;66(3):94–101. (in Russian). doi: 10.21508/1027-4065-2021-66-3-94-101
9. Cicardi M., Zuraw B.L. Angioedema due to bradykinin dysregulation. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2018;6(4):1132–1141. doi: 10.1016/j.jaip.2018.04.022
10. Betschel S., Badiou J., Binkley K. The International/Canadian hereditary angioedema guideline. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2019;15:72. doi: 10.1186/s13223-019-0376-8
11. Bork K., Hardt J., Witzke G. Fatal laryngeal attacks and mortality in hereditary angioedema due to C1-INH deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;130(3):692–7. doi: 10.1016/j.jaci.2012.05.055
12. Maurer M. *Chronic inducible urticaria: when antihistamines fail.* EAACI Hybrid Congress 2023: 9–11 July. Available at: <https://virtual.eaaci.org> (accessed July 11, 2023).
13. Urticaria Registry. Available at: <https://www.urticaria-registry.com> (accessed August 2, 2024).
14. Nisar M.K., van de Vlekkert J. Complement C1q and systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2011;20(7):760–764. doi: 10.1177/0961203310395807
15. Kostiuk S.A. Validation of molecular biological methods for laboratory diagnostics. *Medical News.* 2012;(4):16–19. (in Russian)
16. Thornton D., et al. Autoantibodies to complement components and their role in autoimmune disease pathogenesis. *J. Autoimmun.* 2021. doi: 10.1016/j.jaut.2021.102622



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.4.006>
УДК [616.41-018.4:616.419]-089. 843-053.2:612.115



Дмитриев В.В.✉, Какунин А.М., Минаковская Н.В., Прудников Д.В., Кирсанова Н.П., Марейко Ю.Е., Наумович М.Г., Янушкевич П.Г., Жерко Л.В., Борисенко М.Б., Мычкова Г.Н. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

Свертывание крови в динамике аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток костного мозга у детей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн – Дмитриев В.В.; исследование свертывания крови – Борисенко М.Б.; исследование антикоагулянтной активности – Мычкова Г.Н.; выполнение процедуры введения мезенхимальных стволовых клеток, лечение пациентов, забор анализов – Минаковская Н.В., Прудников Д.В., Кирсанова Н.П., Марейко Ю.Е., Наумович М.Г., Янушкевич П.Г., Жерко Л.В.; клиническая характеристика пациентов – Минаковская Н.В., Прудников Д.В.; анализ и интерпретация осложнений ТГСК – Какунин А.М.; анализ и интерпретация результатов – Дмитриев В.В.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Подана: 20.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: dmitrievhaematol@mail.ru

Резюме

Цель. Изучить изменения свертывания крови в динамике аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток костного мозга у детей.

Материалы и методы. В исследование включены 28 пациентов в возрасте 9,0 (1,0–20,0) года, находившихся на лечении по поводу гемобластозов. Мальчиков – 21, девочек – 7.

Результаты. Накануне кондиционирования у обследованных пациентов зарегистрировано состояние нормокоагуляции. После алло-ТГСК отмечен рост активности и содержания фактора Виллебранда в сочетании с повышением активности фактора VIII. Наличие корреляционной связи между повышением активности фактора VIII и активностью протеина С и протеина S указывало на контролируемую естественными антикоагулянтами гиперкоагуляцию. На день констатации события (острая РТПХ, СОС, ТА-ТМА) выявлено за пределами высокое содержание 163,0 (99,0–237,0)% и активность 227,0 (142,0–340,0)% фактора Виллебранда. Повышение активности фактора VIII свыше 200% не зависело от содержания фактора Виллебранда, что в сочетании со снижением активности протеина S способствовало не контролируемой ингибиторами гиперкоагуляции.

Заключение. Изменения свертывания крови в динамике ТГСК носили вторичный характер и отражали эндотелиальную дисфункцию, возникшую в результате действия повреждающего агента.

Преимущественный рост содержания и активности фактора Виллебранда, активности фактора VIII на фоне изменения активности протеина С и снижения активности протеина S может быть использован в качестве предиктора эндотелиальной дисфункции, независимо от особенностей повреждающего агента.

Ключевые слова: гемобластозы, дети, костный мозг, гемопоэтические стволовые клетки, трансплантация, свертывание крови

Dmitriev V. ✉, Kakunin A., Minakovskaya N., Prudnikau D., Kirsanova N., Mareika Y.,
Naumovich M., Yanushkevich P., Zherko L., Borisenok M., Michkova G.
Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology
and Immunology, Minsk, Belarus

Blood Clotting in the Dynamics of Allogeneic Transplantation of Hemopoietic Bone Marrow Stem Cells in Children

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design – Dmitriev V.; blood coagulation study – Borisenok M.; anticoagulant activity study – Michkova G.; mesenchymal stem cell injection procedure, patient treatment, sampling – Minakovskaya N., Prudnikau D., Kirsanova N., Mareika Y., Naumovich M., Yanushkevich P., Zherko L.; clinical characteristics of patients – Minakovskaya N., Prudnikau D.; analysis and interpretation of complications of HSCT – Kakunin A.; analysis and interpretation of results – Dmitriev V.

Funding: the study had no sponsorship.

Submitted: 20.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: dmitrievhaematol@mail.ru

Abstract

Purpose. To study changes in blood coagulation in the dynamics of allogeneic transplantation of hematopoietic bone marrow cells in children.

Materials and methods. The study included 28 patients aged 9.0 (1.0–20.0) years who were being treated for hematological malignancies. There are 21 boys, 7 girls.

Results. On the eve of conditioning, a state of normocoagulation was registered in the examined patients. After allo-HSCT, an increase in the activity and content of von Willebrand factor was observed in combination with an increase in the activity of factor VIII. The presence of a correlation between increased factor VIII activity and the activity of protein C and protein S indicated hypercoagulation controlled by natural anticoagulants. On the day the event was detected (acute GVHD, SOS, TA-TMA), an extremely high content of 163.0 (99.0–237.0)% and activity of 227.0 (142.0–340.0)% of von Willebrand factor were detected. An increase in the activity of factor VIII over 200% did not depend on the content of von Willebrand factor, which, in combination with a decrease in the activity of protein S, contributed to hypercoagulation not controlled by inhibitors.

Conclusion. Changes in blood coagulation in the dynamics of HSCT were secondary in nature and reflected endothelial dysfunction resulting from the action of a damaging agent.

A predominant increase in the content and activity of von Willebrand factor, factor VIII activity against the background of changes in the activity of protein C and a decrease in the activity of protein S can be used as predictors of endothelial dysfunction, regardless of the characteristics of the damaging agent.

Keywords: hemoblastoses, children, bone marrow, hemopoietic stem cells, transplantation, blood clotting



■ ВВЕДЕНИЕ

Аллогенная трансплантация костного мозга – единственный лечебный вариант при многих доброкачественных и злокачественных онкогематологических заболеваниях (острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, нейробластома, апластическая анемия, иммунодефициты и др.) [1].

Наиболее часто встречаемыми осложнениями трансплантации костного мозга (ТКМ), несущими высокий риск заболеваемости и смертности, являются: реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ, Т86.0 по МКБ-10), тромботическая микроангиопатия (ТМА, М31.1 по МКБ-10), синусоидальный обструктивный синдром (СОС, К76.5 по МКБ-10). Данные патологии развиваются, как правило, в ранний посттрансплантационный период и являются следствием активации и повреждения эндотелия [2].

В настоящее время в мире ведутся активные исследования по поиску информативных и чувствительных маркеров раннего развития дисфункции эндотелия. Среди них: циркулирующие провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, IL-8, интерферон гамма, TNF α), ангиогенные факторы (VEGF, ANG2), адгезионные молекулы (ICAM-1, VCAM-1, P-selectin, E-selectin), белковый комплекс системы комплемента C5b-9, циркулирующие микро-РНК. Вышеперечисленные маркеры сигнализируют об активации эндотелия и развитии его дисфункции, однако на сегодняшний день не существует идеального биомаркера, обладающего необходимой чувствительностью и специфичностью [3–5]. Ряд исследователей в качестве маркеров эндотелиальной дисфункции рассматривают коагуляционные факторы (vWF, PAI, FVIII, protein C, тромбомодулин, антитромбин III, содержание Д-димеров и продуктов деградации фибриногена и фибрина) [6–9]. Данных об изменении показателей свертывания крови в динамике аллогенной ТГСК у детей не представлено.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить изменения свертывания крови в динамике трансплантации гемопоэтических клеток костного мозга (ТГСК) у детей.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 27 пациентов в возрасте 9,0 (1,0–20,0) года, находившихся на лечении в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». Мальчиков – 22, девочек – 5. С января по декабрь 2023 г. 27 пациентов получили 28 ТГСК. Аллогенные ТГСК проведены 25 реципиентам, 2 пациента (герминогенная опухоль, нейробластома) получили высокодозную ХТ с поддержкой аутологических периферических стволовых клеток – аутоПСК (n=3). В группе пациентов, которым была проведена аллогенная ТГСК, количество пациентов с острым лимфобластным лейкозом составило 7 человек (28%), с острым миелобластным лейкозом – 7 человек (28%), 5 (20%) реципиентов имели диагноз «приобретенная апластическая анемия», 3 (12%) – первичный иммунодефицит, 1 (4%) – вторичный миелодиспластический синдром, 1 (4%) – анапластическая крупноклеточная лимфома, 1 (4%) – острый лейкоз со смешанным фенотипом. Миелоаблативный режим кондиционирования получили 20 (80%) реципиентов, из них тотальное облучение тела выполнено 6 пациентам, бусульфан/треосульфан получили 9 реципиентов (36%). Режим со сниженной интенсивностью получили 5 человек

(20%). В зависимости от донора ГСК 6 пациентам (24%) выполнена алло-ТГСК от родственного совместимого донора, 9 человек (36%) получили ТГСК от неродственного совместимого донора, 10 (40%) – гаплоидентичную ТГСК.

Подавляющее большинство реципиентов алло-ТГСК (92% (n=23)) получили циклоспорин в монотерапии или в комбинации с другими иммуносупрессивными препаратами. Также в составе ИСТ применяли микофенолата мофетил (n=14; 56%), метотрексат (n=4; 16%), абатацепт (n=1; 4%). Реципиенты гапло-ТГСК (n=10) получали циклофосфамид на день +3, +4 после ТГСК; 2 (8%) реципиента – руксолитиниб и метилпреднизолон в составе комбинированной ИСТ. На момент проведения ТГСК индекс Карновского – Ланского ≥ 70 имели 26 (96%) реципиентов. Клиническое состояние на начало кондиционирования расценено как стабильное, компенсированное. Основные показатели гомеостаза приведены в табл. 1.

В качестве события учитывали: ТМА – 1 случай (20-й день после ТГСК), СОС – 2 случая (15–20-й дни после ТГСК), острая РТПХ – 10 пациентов (15–30-й дни). Всего в 28 случаях ТГСК события выявлены в 13 наблюдениях за первые 28–30 дней раннего посттрансплантационного периода. День выявления события определяла дата регистрации осложнения в истории болезни. Оценку клинического состояния и взятие крови пациентов для исследования ЭД проводили в 6 временных точках в течение 100 дней после трансплантации костного мозга: исходная точка – до кондиционирования, в день трансплантации, через 1–2, 14, 28 и 100 дней после трансплантации и/или в день констатации события в истории болезни по клиническим проявлениям осложнений ТГСК.

Венозную кровь для исследования свертывания на момент тромбоза в объеме 3 мл набирали путем пункции периферической вены без наложения жгута, стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 соответственно. Стабилизированную кровь центрифугировали при ускорении 200g в течение 10 мин для получения богатой тромбоцитами плазмы, после чего тромбоцитарную плазму в отдельной пробирке дополнительно центрифугировали при 2000g в течение 10 мин для приготовления бедной (бестромбоцитарной) плазмы, использовавшейся для исследования. Исследование свертывания включало: регистрацию турбидиметрическим методом хронометрических показателей (активированного парциального тромбопластинового времени – АПТВ, протромбинового времени – ПВ, тромбинового времени – ТВ), содержания плазменного фибриногена методом Claus автоматическими коагулометрами ACL-7000 и ACL-9000 фирмы Instrumentation Laboratory (IL) с использованием диагностических наборов фирмы IL. Количественным методом по тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными на них моноклональными антителами определяли содержание vWF:Ag и активность vWF:RCo фактора Виллебранда набором фирмы IL. Количественным методом по тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными на них моноклональными антителами выявляли содержание Д-димеров набором D-Dimer kit фирмы IL. По тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными моноклональными антителами проводили количественное определение в плазме крови ранних продуктов деградации фибриногена и фибрина (ПДФ) набором PDF PLASMA фирмы Stago и растворимых комплексов мономеров фибрина (ПКМФ) с использованием стандартного набора F.S. TEST фирмы Stago. С использованием хромогенных субстратов, входящих в диагностические наборы IL, регистрировали активность антитромбина III, протеина С и протеина S.



Таблица 1
Характеристика пациентов в динамике аллогенной трансплантации костного мозга у детей
Table 1
Characteristics of patients in the dynamics of allogeneic bone marrow transplantation in children

Анализируемый признак	Этапы исследования и события							Этап 7 На день события n=10
	Этап 1 События нет n=28	Этап 2 События нет n=28	Этап 3 События нет n=28	Этап 4 События нет n=25	Этап 5 На день события n=3	Этап 6 События нет n=15		
День исследования до или после ТСК, день	-7	0	+(2-3)	+14	+16,0 13,0-18,0	+28	+22,0 19,0-28,0	
Возраст, полных лет	10,0 (1,0-20,0)	10,0 (1,0-20,0)	10,0 (1,0-20,0)	10,0 (1,0-20)	6,8 (2,0-15,0)	13,0 (1-20)	5,0 (1,0-15,0)	
Гемоглобин крови, г/л	100,0 81,0-123,0	90,0 76,0-106,0	103,0 80,0-128,0	95,0 81,0-112,0	99,0 87,0-118,0	93,0 78,0-117,0	106,0 94,0-121,0	
Лейкоциты крови, 10 ¹² /л	3,92 (0,43-7,29)	0,59 (0,0-1,7) P(2-1)=0,001	0,21 (0,01-0,6) P(3-1)=0,001	1,69 0,01-5,65 P(4-1)=0,01	2,8 0,57-6,01	3,4 1,5-6,4	5,2 1,3-11,1	
Тромбоциты венозной крови, 10 ⁹ /л	171,0 24,0-326,0	77,0 13,0-170,0 P(2-1)=0,001	56,0 21,0-119,0 P(3-1)=0,001	44,0 10,0-83,0 P(4-1)=0,01	64,0 17,0-94,0 P(5-1)=0,001	55,0 17,0-119,0 P(5-1)=0,01	65,0 35,0-108,0 P(5-1)=0,01	
Лактатдегидрогеназа, МЕ/л	196,0 (100,0-272,0)	176,0 125,0-223,0	201,0 129,0-265,0	219,0* 156,0-298,0	507,0 221,0-794,0	237,0* 169,0-320,0	283,0 154,0-342,0	
Креатинин крови, мкмоль/л	41,0 (26,0-63,0)	37,0 (25,0-50,0)	45,0 (26,0-59,0)	39,0 27,0-58,0	38,0 27,0-49,0	49,0 30,0-79,0	30,0 19,0-46,0	
ЛДГ (МЕ) x креатинин (мг/100 мл) x TP-1	0,8 (0,2-1,5)	2,0 (0,52-4,13) P(2-1)=0,01	2,5 (0,4-4,5) P(3-1)=0,0001	3,0 (0,8-5,5)* P(4-1)=0,01	7,7(1,4-14,0) P(5-1)=0,001	3,6 (0,9-7,8)* P(6-1)=0,01	1,75 (0,6-3,7) P(7-1)=0,01	
r Ur Pr / CR	0	0	0	-	-	0,1 (0-0,33)	0,9 (0,0-6,2)	
C-реактивный белок, мг/100 мл	1,45 (0,02-5,6)	1,31 (0,08-3,0)	1,9 (0,07-6,1) P(3-1)=0,01	1,0 (0,03-2,1)	2,2 (0,3-6,1)	0,7 (0,02-2,0)	0,4 (0,02-1,2)	
S3a, г/л	1,14 (0,84-28)	1,03 (0,66-37)	1,31 (0,97-1,7)	1,52 (1,3-1,8)	-	1,5 (1,2-1,88)	1,2 (1,2-1,2)	
S4, г/л	0,28 (0,14-39)	0,22 (0,08-35)	0,25 (0,04-43)	0,4 (0,2-0,5)	-	0,3 (0,1-0,5)	0,06 (0,0-0,06)	

Примечания: P – достоверность различия на этапе по сравнению с исходным (этап 1) значением (день= -7); T-тест Wilcoxon; * достоверность различия по сравнению с аналогичным показателем на день события (p<0,05; U-тест Mann – Whitney).

Для коагуляционных показателей в качестве контроля использовали нормальную контрольную плазму, входящую в состав диагностических наборов фирмы IL. Представление результатов хронометрических тестов в виде относительной величины (R), равной отношению исследуемого хронометрического показателя к величине соответствующего показателя контрольной плазмы, позволило сравнивать результаты независимо от времени проведения исследования, активности используемых реагентов. По результату определения протромбинового времени с учетом чувствительности реагента анализатор автоматически рассчитывал активность факторов протромбинового комплекса и международное нормализованное отношение (МНО). За величину показателей гемостаза, отражающих возрастную норму, использовали результаты наблюдений, представленные в публикациях Andreu M. et al., 1992 [13], и Toulon P. et al., 2016 [14].

Подсчет показателей общего анализа крови, включая содержание тромбоцитов периферической крови, осуществляли автоматическим анализатором MICROS-60. Дополнительно регистрировали активность лактатдегидрогеназы (МЕ/л), креатинин крови (мкмоль/л), С-реактивный белок (мг/100 мл), количественное содержание компонента С3а (г/л) и С4 (г/л). Для прогнозирования осложнений при аллогенной трансплантации костного мозга использовали расчетный показатель EASEX (Endothelial Activation and Stress Index): ЛДГ (МЕ) × креатинин (мг/100 мл) × тромбоциты крови⁻¹.

Статистический анализ данных выполнен при помощи компьютерного пакета программ STATISTICA (версия 6.0). Количественные показатели описательной статистики представлены как медиана (10–90-й процентиля). Достоверность различия показателей в сравниваемых группах оценивали по критерию Mann – Whitney Test (U), а для попарно связанных вариантов – по парному критерию Вилкоксона (T). Значимыми признаны различия для $P < 0,05$. Взаимосвязь между изменением значений коагуляционных показателей оценивали по критерию ранговой корреляции G.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Перед началом кондиционирования (Д= -7) у всех пациентов зарегистрировано состояние нормокоагуляции, на что указывали величина отношения АПТВ пациента / АПТВ в контроле 1,01 (0,82–1,21), активность факторов протромбинового комплекса 87,0 (71,0–105,0)%, содержание фибриногена 3,4 (2,4–5,1) г/л и содержание тромбоцитов венозной крови $171,0 (24,0–326,0) \times 10^9/\text{л}$. Зарегистрировано близкое к возрастной норме содержание vWF:Ag 136,0 (107,0–167,0)% и активности vWF:RCo 137,0 (84,0–211,0)% фактора Виллебранда, активности фактора свертывания крови VIII 119,6 (80,0–168,0)%. Активность антитромбина III 105,0 (82,0–128,0)%, протеина С 84,0 (54,0–110,0)%, протеина S 91,0 (68,0–129,0)% также была близка к возрастной норме.

После завершения кондиционирования на Д=0 выявлено (табл. 2) повышение ($p=0,006$; T-тест) активности факторов протромбинового комплекса до 96,0 (86,7–109,0)%. Повышение содержания vWF:Ag 151,0 (134,0–176,0)% коррелировало ($G=0,39$; $p=0,009$) с повышением активности фактора VIII 142,0 (86,0–193,0)% и сопровождалось снижением активности протеина S до 88,0 (67,0–110,0)%. Рост активности фактора VIII коррелировал ($G=0,295$; $p=0,025$) с изменением активности протеина С 94,0 (69,0–136,0).



После алло-ТГСК (D=+2) сохранялась повышенная (p=0,03) активность факторов протромбинового комплекса 96,5 (80,0–116,0)% на фоне повышения (p=0,01) по сравнению с исходным значением содержания фибриногена до 3,9 (2,5–5,2) г/л. Рост (p=0,03) Д-димеров до 0,8 (0,29–1,42) мкг/мл был сопряжен (G=0,724; p=0,001) с повышением ПДФ до 3,4 (1,5–5,8) мкг/мл (p=0,01) по сравнению с исходным, что, однако, не превышало референтный диапазон нормы (<5,0 мкг/мл). Зарегистрирован рост содержания vWF:Ag 154,0 (131,0–171,0)% и активности vWF:RCo 175,0 (124,0–244,0)%. Повышение активности фактора Виллебранда было тесно связано (G=0,502; p=0,001) с ростом (p=0,002) активности фактора VIII до 155,0 (112,0–208,0)%. Наличие корреляционной связи между повышением активности фактора VIII, и активностью протеина С 95,0 (66,0–133,0)% (G=0,32; p=0,001), и изменением активности протеина S 84,0 (68,0–105,0)% (G=0,32; p=0,0001) указывало на контролируемую естественными антикоагулянтами гиперкоагуляционную направленность изменений свертывания крови.

Хронометрические показатели 25 пациентов при бессобытийном течении раннего посттрансплантационного периода на 14-й день мало отличались от исходного значения и указывали на состояние нормокоагуляции. Обращало внимание прогрессирующее повышение содержания 157,0 (127,0–176,0)% и активности 175,0 (124,0–244,0)% фактора Виллебранда. Повышение vWF:RCo было тесно связано (G=0,481; p=0,007) с повышением активности фактора VIII до 160,0 (84,0–272,0)% (p=0,04) по сравнению с исходным значением. Отсутствие взаимосвязи между повышением активности фактора VIII и изменением активности протеина С 93,0 (39,0–168,0)% (G=0,362; p=0,07) и протеина S 84,0 (68,0–105,0)% (G=0,241; p=0,17) указывало на потерю антикоагулянтного контроля за активацией свертывания крови.

Тяжесть состояния 3 из 28 пациентов на день 16,0 (13,0–18,0) усугубило появление события в виде клинических симптомов острой РТПХ (2 пациента) и синусоидального обструктивного синдрома (1 пациент). Пациенты показали преимущественный рост содержания 172,0 (169,0–175,0)% и активности 261,0 (234,0–277,0)% фактора Виллебранда, активности фактора VIII 212,0 (180,0–275,0)%. На повышенную склонность к тромбообразованию косвенно указывало повышенное по сравнению с исходным значением содержание Д-димеров 3,6 (0,7–8,6) мкг/мл и ПДФ 10,8 (5,5–21,0) мкг/мл, что было больше (p<0,05), чем у 25 пациентов с бессобытийным посттрансплантационным периодом. Следует отметить, что содержание С-реактивного протеина 2,2 (0,3–6,1) мг/дл мало отличалось (p=0,082) от исходного значения 1,45 (0,02–5,6) мг/дл.

Большинство хронометрических показателей 15 пациентов к 28-му дню бессобытийного течения раннего посттрансплантационного периода не отличались от своего исходного значения. Активность антитромбина III 124,0 (91,0–200,0)%, протеина С 116,0 (66,0–200,0)%, протеина S 101,0 (58,0–153,0) незначительно превышала значения соответствующих показателей перед началом кондиционирования. Сохранялись повышенные, по сравнению с исходным значением, содержание 166,0 (152,0–180,0)% и активность 206,0 (109,0–291,0)% фактора Виллебранда. Повышение активности фактора VIII до 171,0 (83,0–298,0)% зависело (G=0,442; p=0,012) от изменения активности vWF:RCo 206,0 (109,0–291,0)%.

Клинические проявления острой РТПХ (n=8), веноокклюзионной болезни в виде синусоидального обструктивного синдрома (n=1), тромботической микроангиопатии (n=1) в период с 19-го по 28-й день осложнили алло-ТГСК у 10 пациентов.

Характерными изменениями свертывания крови на день события были повышенное, по сравнению с исходным, содержание 163,0 (99,0–237,0)% и активность 227,0 (142,0–340,0)% фактора Виллебранда. Повышение активности фактора VIII 161,0 (99,0–237,0)% не зависело ($G = -0,114$; $p = 0,6$) от содержания фактора Виллебранда, но было связано ($G = 0,6$; $p = 0,011$) с повышением активности протеина С 113,0 (57,0–200,0)%. Зарегистрировано снижение, по сравнению с исходным, активности протеина S до 80,0 (44,0–122,0)%, что было ниже аналогичного показателя 101,0 (58,0–153,0)% на 28-й день при неосложненной ТГСК. Ускоренную генерацию тромбина косвенно отражали повышенное содержание РКМФ 9,4 (4,3–19,0) мкг/мл и Д-димеров 1,97 (0,21–2,7) мкг/мл.

Повышенное, по сравнению с исходным, содержание 153,0 (119,0–175,0)% и активность 165,0 (129,0–249,0)% фактора Виллебранда зарегистрированы у 11 пациентов с бессобытийным течением на 100-й день посттрансплантационного периода. Активность фактора VIII 137,0 (75,0–223,0), естественных антикоагулянтов не отличалась от исходной, что указывало на относительную стабилизацию показателей плазменного звена свертывания крови.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Эндотелиальные клетки (ЭК) в силу анатомо-морфологических особенностей строения различных тканей организма одними из первых взаимодействуют с различными патологическими (лекарственные средства, ионизирующее излучение, продукты клеточного повреждения, элементы системы комплемента) и физиологическими (цитокины, метаболиты кининогенеза, катехоламинов, глюкокортикоиды, регуляторные молекулы эндокринной системы, элементы свертывания крови) агентами [4]. Одновременно ЭК являются ключевым регулятором реакции воспаления за счет высвобождения специфических маркеров, таких как фактор фон Виллебранда (VWF), тромбомодулин (TM), активатор плазминогена типа 1 (PAI-1), содержание и активность металлопротеиназы ADAMS 13, расщепляющей VWF и растворимые молекулы клеточной адгезии (sCAM). Перечисленные маркеры, по мнению экспертов, являются маркерами активации и повреждения ЭК [10].

Накануне ТГСК исследователи выявили повышение, по сравнению с контролем, содержания и активности VWF, содержания TM, ангиопоэтина-2 (ANG2), экспрессируемых ЭК. Данное обстоятельство косвенно указывало на предшествовавшее ТГСК повреждение эндотелия, связанное с основным онкогематологическим заболеванием или предшествовавшим лечением [10, 11]. В первые недели после ауто- и алло-ТГСК исследователи отметили увеличение VWF и растворимого межклеточного белка CAM-1 (sICAM-1). У пациентов после алло-ТГСК, у которых развились SOS, TA-TMA и GVHD, наблюдалось значительное повышение содержания как VWF, так и TM [11]. Кроме того, повышенные уровни VWF и TM (в сочетании с повышением ICAM-1 и E-селектина), измеренные через 1 неделю после ТГСК, были использованы в качестве биомаркера для прогнозирования СОС у пациентов, получавших такролимус и сиролимус в качестве профилактики РТПХ [5, 12].

Накануне кондиционирования у обследованных нами пациентов зарегистрировано состояние нормокоагуляции. После завершения кондиционирования выявлено состояние гиперкоагуляции, на что указывали повышение активности факторов протромбинового комплекса, активности фактора Виллебранда и фактора



Таблица 2
Изменение показателей свертывания крови в динамике аллогенной трансплантации костного мозга у детей
Table 2
Changes in blood coagulation parameters in the dynamics of allogeneic bone marrow transplantation in children

Анализируемый признак	Этапы исследования и события						
	Этап 1	Этап 2	Этап 3	Этап 4	Этап 5	Этап 6	Этап 7
События нет n=28	События нет n=28	События нет n=28	События нет n=25	На день со- бытия n=3	События нет n=15	На день со- бытия n=10	
День исследования до или после ТКМ, день	-7	0	+(2-3)	+14	+16,0 13,0-18,0	+28	+22,0 19,0-28,0
Отношение АПТВ пациента / АПТВ в контроле, ед.	1,01 0,82-1,21	0,98 0,82-1,14	1,01 0,81-1,23	1,07 0,87-1,36	1,08 0,98-1,12	1,01 0,69-1,39	0,95 0,83-1,13
Активность факторов протромбинового комплекса, %	87,5 71,0-105,0	96,5 86,7-109,0 P(2-1)=0,006	96,5 80,0-116,0 P(3-1)=0,03	90,0 71,0-108,0	89,0 84,0-93,0	90,0 73,0-112,0	89,0 64,0-114,0
Фибриноген, г/л	3,4 2,4-5,1	3,3 2,2-4,6	3,9 2,5-5,2 P(3-1)=0,01	4,1 2,2-5,8 P(4-1)=0,001	3,8 2,7-5,4	3,4 1,46-5,3	2,6 1,4-4,0
Фактор Виллебранда, %	136,9 107,0-167,0	151,0 134,0-176,0 P(2-1)=0,01	154,0 131,0-171,0 P(3-1)=0,002	157,0* 127,0-176 P(4-1)=0,006	172,0 169,0-175 P(5-1)=0,02	166,0 152,0-180,0 P(6-1)=0,003	163,0 99,0-237,0 P(7-1)=0,002
Активность фактора Виллебранда, %	137,0 84,6-211,0	155,0 112,0-208,0	175,0 124,0-244,0 P(3-1)=0,002	200,0* 84,0-272,0 P(4-1)=0,001	261,0 234,0-277 P(5-1)=0,02	206,0* 109,0-291,0 P(6-1)=0,003	227,0 142,0-340,0 P(7-1)=0,001
Активность фактора VIII, %	119,6 80,0-168,0	142,0 86,0-193,0 P(2-1)=0,01	155,0 78,0-259,0 P(3-1)=0,01	160,0* 84,0-272,0 P(4-1)=0,04	212,0 180,0-275,0 P(5-1)=0,045	171,0* 83,0-298,0 P(6-1)=0,02	161,0 99,0-237,0 P(7-1)=0,03
Активность антитромбина III, %	105,0 82,0-128,0	111,0 97,0-126,0	110,2 96,0-124,0	107,0 72,0-125,0	123,0 112,0-130,0	124,0 91,0-200,0	113,0 90,0-133,0
День исследования до или после ТКМ, день	-7	0	+(2-3)	+14	+16,0 13,0-18,0	+28	+22,0 19,0-28,0
Активность протеина С, %	84,0 54,0-110,0	94,0 69,0-136,0	95,0 66,0-133,0	93,0 39,0-168,0	84,0 60,0-119,0	116,0 66,0-200,0	113,0 57,0-200,0

Окончание таблицы 2

Анализируемый признак	Этапы исследования и события						
	Этап 1 События нет n=28	Этап 2 События нет n=28	Этап 3 События нет n=28	Этап 4 События нет n=25	Этап 5 На день со- бытия n=3	Этап 6 События нет n=15	Этап 7 На день со- бытия n=10
Активность протеина S, %	91,0 68,0–129,0	88,0 67,0–110,0 P(2–1)=0,03	84,0 68,0–105,0	84,0 65,0–127,0	96,0 75,0–108,0	101,0* 58,0–153,0	80,0 44,0–122,0 P(7–1)=0,04
Д-димер, мкг/мл	0,78 0,21–1,37	0,66 0,26–1,07	0,8 0,29–1,42 P(3–1)=0,03	2,7* 0,4–3,9 P(4–1)=0,02	3,6 0,7–8,6 P(5–1)=0,01	0,7* 0,3–0,92	1,97 0,21–2,7 P(7–1)=0,01
Продукты деградации фибриногена и фибрина, мкг/мл	2,12 0,94–4,94	2,92 1,65–5,8 P(2–1)=0,02	3,4 1,5–5,8 P(3–1)=0,01	2,7* 1,6–5,4	10,8 5,5–21,0 P(5–1)=0,01	3,0* 1,6–7,0 P(6–1)=0,01	5,4 2,2–23,0 P(7–1)=0,04
Растворимые комплексы мономеров фибрина, мкг/мл	8,29 3,0–11,54	7,0 2,0–16,4 P(2–1)=0,02	9,5 3,3–39,7	8,0 2,4–12,0	8,0 3,2–17,0	8,2 1,9–10,7	9,4 4,3–19,0
Тромбоциты венозной крови, 10 ⁹ /л	171,0 24,0–326,0	77,0 13,0–170,0 P(2–1)=0,001	56,0 21,0–119,0 P(3–1)=0,001	44,0 10,0–83,0 P(4–1)=0,002	63,0 17,0–94,0 P(5–1)=0,003	55,0 17,0–119,0 P(6–1)=0,007	65,0 35,0–108,0 P(7–1)=0,01

Примечания: P – достоверность различия на этапе по сравнению с исходным (этап 1) значением (день = –7); T-тест Wilcoxon; * достоверность различия по сравнению с аналогичным показателем на день события (p<0,05; U-тест Mann – Whitney).



свертывания крови VIII в сочетании со снижением активности протеина S. Наличие тесной взаимосвязи между повышением активности фактора VIII и изменением активности протеина S отражало контролируемую ингибиторами компенсаторную реакцию по предотвращению полиорганной недостаточности.

После алло-ТГСК (Д+2) отмечен дальнейший рост активности и содержания фактора Виллебранда в сочетании с повышением активности фактора VIII. Данный эффект был расценен как непосредственный результат самой процедуры ТГСК. Наличие корреляционной связи между повышением активности фактора VIII, с одной стороны, и активностью протеина С и изменением активности протеина S, с другой стороны, указывало на контролируемую естественными антикоагулянтами гиперкоагуляционную направленность изменений свертывания крови.

Характерными изменениями свертывания крови на день констатации события (острая РТПХ, ВОБ, ТА-ТМА) были значительно высокое, по сравнению с исходным, содержание 163,0 (99,0–237,0)% и активность 227,0 (142,0–340,0)% фактора Виллебранда. Повышение активности фактора VIII не зависело от содержания фактора Виллебранда, что в сочетании со снижением активности протеина S способствовало не контролируемой ингибиторами свертывания гиперкоагуляции. Ускоренную генерацию тромбина подтверждали повышенное содержание РКМФ 9,4 (4,3–19,0) мкг/мл и Д-димеров 1,97 (0,21–2,7) мкг/мл. Изменения свертывания носили вторичный характер и отражали эндотелиальную дисфункцию, возникшую в результате действия кондиционирования, ТГСК и повреждающего агента, спровоцировавшего событие.

Таким образом, изменения свертывания крови в динамике алло-ТГСК следует рассматривать как реакцию, направленную на поддержание гомеостаза. Преимущественный рост содержания и активности фактора Виллебранда, активности фактора VIII на фоне изменения активности протеина С и снижения активности протеина S объективно отражает изменения функционального состояния эндотелия сосудов и может быть использован в качестве предиктора эндотелиальной дисфункции независимо от особенностей повреждающего агента.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Snowden JA, Sánchez-Ortega I, Corbacioglu S, et al. Indications for haematopoietic cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: Current practice in Europe 2022. *Bone Marrow Transplant.* 2022;57(8):1217–39. doi: 10.1038/s41409-022-01691-w
2. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C, et al. Hematopoietic cell transplantation and cellular therapy survey of the ebmt: Monitoring of activities and trends over 30 years. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56(7):1651–64. doi: 10.1038/s41409-021-01227-8
3. Nomura S, Ishii K, Fujita S, et al. Associations Between Acute GVHD-related Biomarkers and Endothelial Cell Activation After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transpl Immunol.* 2017;43(44):27–32. doi: 10.1016/j.trim.2017.06.004
4. Zeigler ZR, Rosenfeld CS, Andrews DF, et al. Plasma Von Willebrand Factor Antigen (vWF : AG) and Thrombomodulin (TM) Levels in Adult Thrombotic Thrombocytopenic Purpura/Hemolytic Uremic Syndromes (TTP/HUS) and Bone Marrow Transplant-Associated Thrombotic Microangiopathy (BMT-TM). *Am J Hematol.* 1996;53:213–20. doi: 10.1002/(SICI)1096-8652(199612)53:4<213::AID-AJH1>3.0.CO;2-0
5. Ali AM, DiPersio JF, Schroeder MA. The Role of Biomarkers in the Diagnosis and Risk Stratification of Acute Graft-versus-Host Disease: A Systematic Review. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22:1552–64. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.04.022
6. Harper PL, Jarvis J, Jennings I, et al. Changes in the natural anticoagulants following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1990;5:39–42.
7. Gordon B, Haire W, Kessinger A, et al. High frequency of antithrombin 3 and protein C deficiency following autologous bone marrow transplantation for lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 1991;8: 497–502.
8. Collins PW, Gutteridge CN, O'Driscoll A, et al. von Willebrand factor as a marker of endothelial cell activation following BMT. *Bone Marrow Transplant.* 1992;10:499–506.

9. Catani L, Gugliotta L, Mattioli Belmonte M, et al. Hypercoagulability in patients undergoing autologous or allogeneic BMT for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 1993;12:253–259.
10. Richard S, Seigneur M, Blann A, et al. Vascular Endothelial Lesion in Patients Undergoing Bone Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1996;18:955–9.
11. Luft T, Dietrich S, Falk C, et al. Steroid-Refractory GVHD: T-Cell Attack Within a Vulnerable Endothelial System. *Blood.* 2011;118:1685–92. doi: 10.1182/blood-2011-02-334821
12. Zeiser R, Blazar BR. Acute Graft-versus-Host Disease - Biologic Process, Prevention, and Therapy. *N Engl J Med.* 2017;377:2167–79. doi: 10.1056/NEJMr1609337
13. Andrew M, Vegh P, Johnston M, et al. Maturation of the Hemostatic System During Childhood. *Blood.* 1992;80(8):1998–2005.
14. Toulon P, Berruyer M, Brionne-Francois M. Age dependency for coagulation parameters in paediatric populations. *Thrombosis and haemostasis.* 2016;116(1):9–17.



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.4.003>
УДК 616.155.392.2-036.11-08-06-059-053.2



Климкович Н.Н.¹ ✉, Демиденко А.Н.², Руденкова Т.В.¹, Костюк С.А.¹, Алешкевич С.Н.³, Кухта Т.С.⁴

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

³ Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

⁴ Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Метод оценки вероятности развития токсических осложнений при лечении острого лимфобластного лейкоза у детей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Климкович Н.Н. – концепция и дизайн исследования, анализ литературы, анализ и интерпретация данных, написание текста, редактирование; Демиденко А.Н. – сбор материала и создание базы данных, интерпретация данных, редактирование; Руденкова Т.В. – анализ литературы, получение экспериментальных данных, создание базы, анализ и интерпретация данных, написание текста, редактирование; Костюк С.А. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, редактирование; Алешкевич С.Н. – сбор материала и создание базы данных; Кухта Т.С. – статистическая обработка данных, интерпретация данных, редактирование.

Подана: 20.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: det.hematology@mail.ru

Резюме

Цель. Анализ ассоциации полиморфизмов в генах цитохрома P450 с вероятностью развития осложнений на фоне полихимиотерапии острых лимфобластных лейкозов (ОЛЛ) у детей.

Материалы и методы. В исследование включены 106 пациентов с ОЛЛ из В-клеток-предшественников в возрасте от 1 года до 17 лет (медиана 5,2 года). Из клеток периферической крови пациентов выделяли ДНК, после амплификации фрагментов генов CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 проводили рестрикцию полученных ампликонов и электрофоретический анализ фрагментов. Для обнаружения ассоциации между частотами встречаемости аллелей и осложнений использовался анализ таблиц сопряженности. Чувствительность и специфичность моделей определена с помощью ROC-анализа.

Результаты. Установлены ассоциации некоторых полиморфизмов с частотой развития осложнений, превышающей таковую от 4 до 17 раз по сравнению с носителями аллеля дикого типа: токсическая периферическая полинейропатия с мутантным аллелем GG в гене CYP1A1 (A2455G (rs1048943)); токсические осложнения ЦНС с гетерозиготным аллелем CT в гене CYP1A1 (T3801C, rs4646903); аллергические реакции в виде бронхоспазма и анафилаксии с мутантным аллелем TT в гене CYP2E1 (C-1053T (rs2031920)), острый панкреатит с гетерозиготным аллелем A/del в гене CYP2D6 (A2549del (rs35742686)), гипергликемия свыше 13,9 ммоль/л с мутантным аллелем del/del в гене CYP2CD6 (A2549del (rs35742686)). На основе анализа абсолютных

рисков в соответствии с вкладом каждого из вариантов генотипа генов CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 определена балльная оценка показателей, которая позволила установить риск развития токсических осложнений 3–4-й степени (панкреатические осложнения, гипергликемия, аллергические реакции) на фоне химиотерапии ОЛЛ.

Заключение. На основании ассоциации полиморфизмов в генах CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 с развитием осложнений разработан метод оценки вероятности развития токсических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ у детей.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, полихимиотерапия, токсические осложнения, полиморфизм генов CYP

Klimkovich N.¹✉, Demidenko A.², Rudenkova T.¹, Kostiuk S.¹, Aleshkevich S.³, Kukhta T.⁴

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

³ Republican Scientific and Practical Center for Children's Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

⁴ United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Method for Assessing the Probability of Toxic Complications in the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia in Children

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Klimkovich N. – research concept and design, literature analysis, data analysis and interpretation, text writing, editing; Demidenko A. – material collection and database creation, data interpretation, editing; Rudenkova T. – literature analysis, experimental data acquisition, database creation, data analysis and interpretation, writing, editing; Kostiuk S. – concept and design of research, analysis and interpretation of data, editing; Aleshkevich S. – collection of material and creation of a database; Kukhta T. – statistical data processing, data interpretation, editing.

Submitted: 20.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: det.hematology@mail.ru

Abstract

Purpose. To analyse the association of polymorphisms in cytochrome P450 genes with the probability of complications on polychemotherapy for acute lymphoblastic leukaemia (ALL) in children.

Materials and methods. 106 patients with B-cell ALL aged 1 to 17 years (median 5.2 years) were included in the study. DNA was isolated from patients' peripheral blood cells, and after amplification of fragments of CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 genes, restriction of the obtained amplicons and electrophoretic analysis of the fragments were performed. Conjugation table analysis was used to detect the association between allele frequencies and complications. Sensitivity and specificity of the models were determined by ROC analysis.

Results. Associations of some polymorphisms with complication rates 4 to 17 times higher than those of wild-type allele carriers were found: toxic peripheral polyneuropathy



with mutant allele GG in the CYP1A1 gene (A2455G (rs1048943)); toxic CNS complications with heterozygous allele ST in the CYP1A1 gene (T3801C, rs4646903); allergic reactions in the form of bronchospasm and anaphylaxis with mutant allele TT in the CYP2E1 gene (C-1053T (rs2031920)), acute pancreatitis with heterozygous allele A/del in the CYP2D6 gene (A2549del (rs35742686)), hyperglycaemia over 13.9 mmol/l with mutant allele del/del in the CYP2CD6 gene (A2549del (rs35742686)). On the basis of absolute risk analysis in accordance with the contribution of each genotype variant of CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 genes, the score of indicators was determined, which made it possible to establish the risk of toxic complications of 3–4 degrees (pancreatic complications, hyperglycaemia, allergic reactions) against the background of ALL chemotherapy.

Conclusion. Based on the association of polymorphisms in CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 genes with the development of complications were developed a method of assessing the probability of development of toxic complications of 3–4 degree during treatment of ALL in children.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, children, polychemotherapy, toxic complications, CYP gene polymorphism

■ ВВЕДЕНИЕ

Совершенствование знаний и технологий в онкогематологии привело к существенному увеличению эффективности химиотерапевтического лечения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей. Это достижение дало возможность при выборе лечебной тактики ориентироваться не только на увеличение выживаемости, но и на снижение токсичности лекарственных средств, используемых при химиотерапии. Однако рутинная клиническая практика в ходе химиотерапевтического лечения пациентов с ОЛЛ предполагает развитие широкого спектра осложнений [1]. Токсические эффекты химиотерапии являются основанием изменения тайминга протокола лечения, а также снижения дозы лекарственного средства в организме пациента, что отрицательно сказывается на эффективности терапии.

Появление побочных эффектов, как правило, является следствием токсического повреждения здоровых тканей из-за низкой специфичности применяемых лекарственных средств [1]. Способность организма человека противостоять воздействию неблагоприятных факторов основана на функционировании ферментных систем организма, преобразовывающих токсичные соединения в полярные водорастворимые метаболиты, которые могут быть выведены из организма. Для некоторых химиотерапевтических лекарственных средств установлена взаимосвязь дефицита/нарушения работы ферментных систем с появлением осложнений химиотерапии [1, 2]. При этом нарушения работы ферментов могут возникать как за счет снижения его активности, что приводит к нарушениям процесса детоксикации, так и за счет увеличения активности фермента, что приводит к избыточному образованию реактивных метаболитов и усилению токсичности [3].

Одним из факторов, влияющих на формирование индивидуальных различий восприимчивости к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, являются полиморфные варианты генов, контролирующих синтез и продукцию ферментов, участвующих в процессах биотрансформации ксенобиотиков [4]. Белки

суперсемейства цитохрома P450 представляют собой основные ферменты, участвующие в фазе I метаболизма чужеродных соединений. Их структура, функции и активность контролируются генами CYP, среди которых широко распространены полиморфные варианты, играющие важную роль в межиндивидуальной вариабельности реакций на лекарственные средства, а также во взаимодействиях между различными лекарственными средствами (drug-drug interaction), лекарственными средствами и другими ксенобиотиками (drug-xenobiotic interaction), кроме того, оказывающие влияние на восприимчивость организма к химически индуцированным заболеваниям [5].

Семейство генов CYP относят к высокополиморфным генам. Для большинства из 57 генов этого семейства описано от 2 до 140 аллелей, представляющих собой либо однонуклеотидные полиморфизмы, либо делеции (отдельных нуклеотидов или участков гена). Присутствие в геноме измененного аллеля приводит к изменению структуры, функции, уровня каталитической активности фермента [6].

Изучение влияния изменений в функционировании ферментных систем на формирование осложнений при химиотерапии ОЛЛ поможет разработать эффективные подходы к профилактике и лечению осложнений химиотерапии на основании персонализированного подхода с учетом индивидуальных молекулярно-генетических характеристик ферментных систем пациента.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ ассоциации полиморфизмов в генах цитохрома P450 (CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6) с вероятностью развития осложнений на фоне полихимиотерапии острых лимфобластных лейкозов у детей.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В группу исследования включены 106 пациентов с ОЛЛ из В-клеток-предшественников в возрасте от 1 года до 17 лет (медиана возраста 5,2 года), получавших лечение на базе государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» и гематологического отделения для детей государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека». Распределение по гендерной принадлежности равновеликое – 55 девочек (51,9%) и 51 мальчик (48,1%). Критериями включения пациентов в исследование являлись наличие диагноза ОЛЛ, проведение ПХТ не менее 2 месяцев по поводу основного заболевания, отсутствие токсических осложнений, включая синдромальную патологию, до начала лечения.

Материалом исследования служила периферическая кровь. Биологический материал у пациентов забирался после подписания информированного согласия законных представителей пациентов на участие в исследовании. Выделение ДНК из крови проводили с использованием коммерческого набора реагентов NucleoSpin Blood (Macherey-Nagel). Для определения концентрации и степени чистоты выделенной ДНК проводили спектрофотометрические исследования (NanoDrop 1000, Thermo Fisher Scientific), при этом определяли отношение поглощения на длинах волн 260 и 280 нм ($A_{260/280}$). ДНК, выделенную из биологического материала пациентов, использовали для амплификации фрагментов генов CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6.



Аmplификацию ДНК проводили с применением специфических пар праймеров и мастер-микса «ArtMix Форез ДНК-полимераза» (АртБиоТех, Республика Беларусь) на приборе QuantStudio™ 3 (Thermo Fisher Scientific). Для идентификации уровней амплификации специфических и неспецифических фрагментов осуществляли анализ кривых плавления и электрофоретический анализ полученных ампликонов. Рестриктию амплифицированных фрагментов проводили с использованием ферментов: BsrDI (New England BioLabs); MspI (Thermo Fisher Scientific); DraI (Thermo Fisher Scientific), PstI (Thermo Fisher Scientific), RsaI (New England BioLabs); MvaI (Thermo Fisher Scientific), HphI (New England BioLabs).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи компьютерной программы Statistica 10. Для описания частоты выявления признака приводили абсолютные (n) и относительные (%) значения. Для обнаружения ассоциации между частотами встречаемости аллелей и частотами встречаемости тяжелых осложнений использовался анализ таблиц сопряженности (точный критерий Фишера и χ^2 для долей с включением поправки Йейтса на непрерывность). Для сравнения совокупностей по качественным признакам рассчитывались относительные риски и отношения шансов. 95% ДИ для относительных рисков и отношения шансов рассчитывались по методу Уилсона. Для определения чувствительности и специфичности моделей прогнозирования развития тяжелых осложнений в зависимости мутантных аллелей применялся ROC-анализ. Критерием выбора порога отсечения служило требование максимальной суммарной чувствительности и специфичности модели. При уровне значимости $p < 0,05$ различия считались статистически значимыми.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведен анализ ассоциации полиморфизмов в генах цитохрома P450 (CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6) с вероятностью развития осложнений на фоне полихимиотерапии ОЛЛ у детей.

При определении полиморфизма A2455G (rs1048943) в гене CYP1A1 установлена высокая ассоциация мутантного аллеля GG с развитием токсической периферической полинейропатии 3–4-й степени (ОШ=3,9; 95% ДИ 0,23–65,17; $p=0,001$) (рис. 1). Также мутантный аллель GG полиморфного варианта A2455G (rs1048943) в гене CYP1A1 имел абсолютную ассоциацию с развитием токсического панкреатита (рис. 1).

Гетерозиготный аллель СТ в гене CYP1A1 (T3801C, rs4646903) ассоциирован с вероятностью развития токсических осложнений ЦНС 3–4-й степени в 10 раз выше по сравнению с аллелем дикого типа (ОШ=10,7; 95% ДИ 0,91–125,23; $p=0,0001$) (рис. 2).

Мутантный аллель ТТ при определении полиморфизма C-1053T (rs2031920) в гене CYP2E1 связан с высоким риском аллергических реакций в виде бронхоспазма и анафилаксии на фоне полихимиотерапии ОЛЛ (ОШ=9,0; 95% ДИ 0,52–156,52; $p=0,0001$) (рис. 3).

При анализе полиморфизма A2549del (rs35742686) в гене CYP2CD6 установлено, что мутантный аллель del/del ассоциирован с вероятностью развития гипергликемии свыше 13,9 ммоль/л в 17 раз выше, чем у пациентов с аллелем дикого типа (ОШ=17,3; 95% ДИ 2,06–145,66; $p=0,0001$) (рис. 4).

У пациентов, имеющих гетерозиготный аллель A/del полиморфного варианта A2549del (rs35742686) в гене CYP2D6, по сравнению с пациентами, имеющими

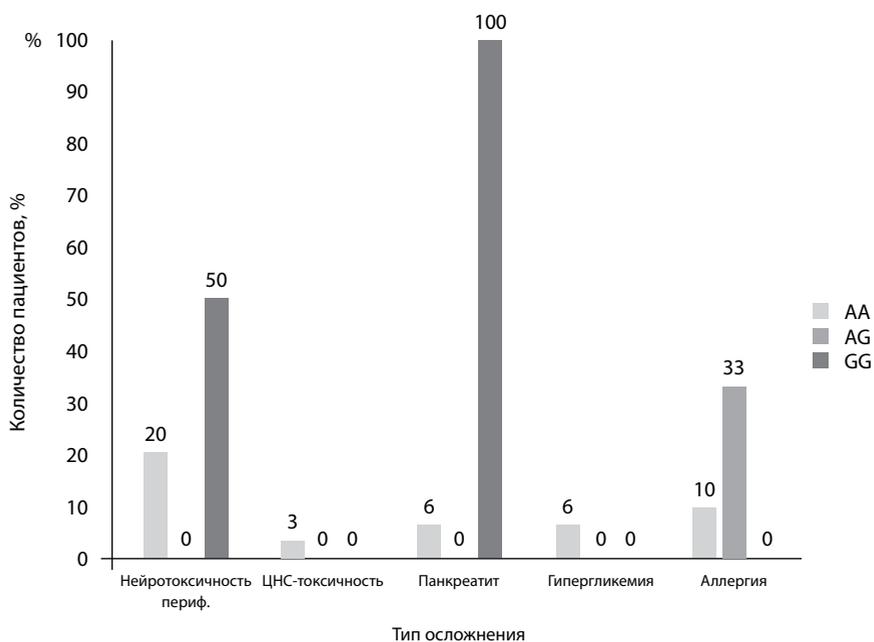


Рис. 1. Частота токсических осложнений на фоне полихимиотерапии ОЛЛ у детей при наличии полиморфизма A2455G (rs1048943) в гене CYP1A1
Fig. 1. Frequency of toxic complications during pediatric ALL polychemotherapy for the A2455G (rs1048943) polymorphism in the CYP1A1 gene

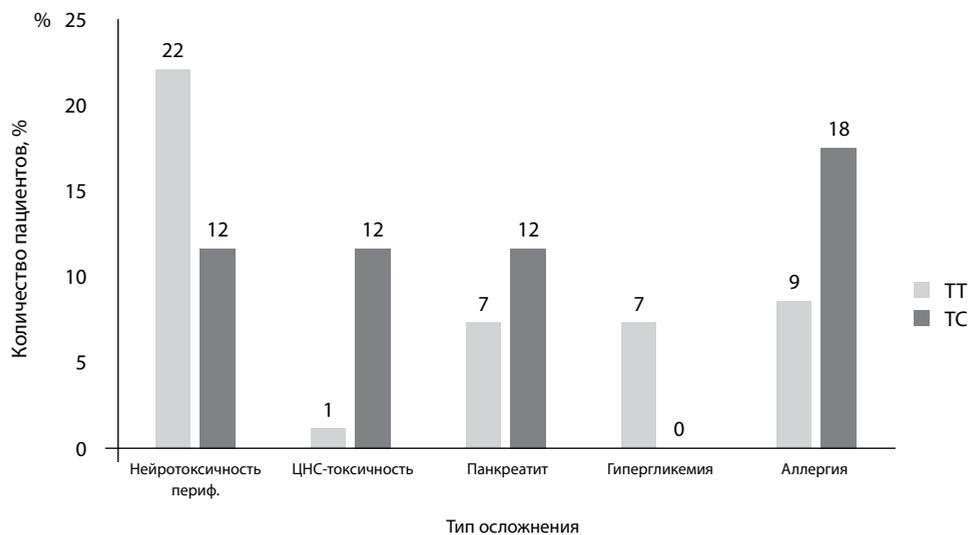


Рис. 2. Частота токсических осложнений на фоне полихимиотерапии ОЛЛ у детей при наличии полиморфизма T3801C (rs4646903) в гене CYP1A1
Fig. 2. Frequency of toxic complications during pediatric ALL polychemotherapy for the T3801C (rs4646903) polymorphism in the CYP1A1 gene

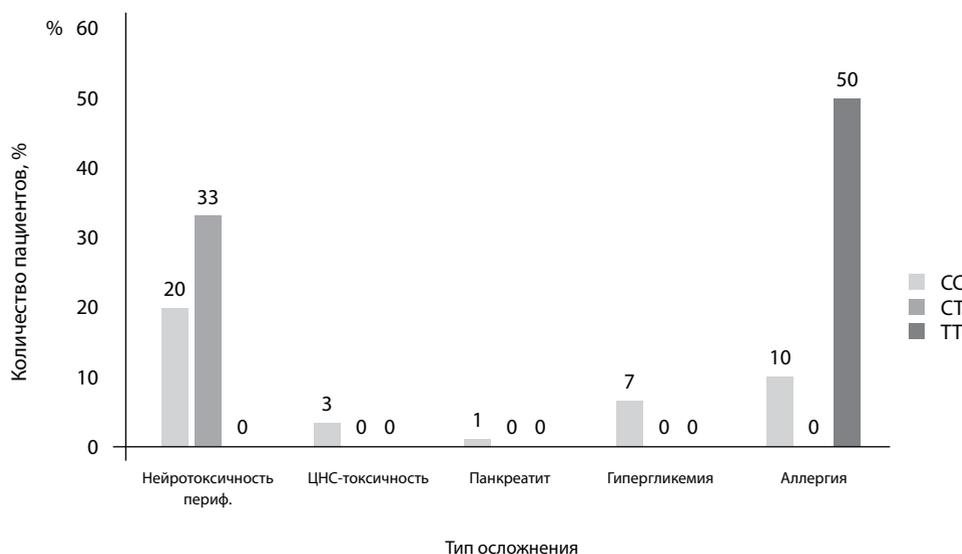


Рис. 3. Частота токсических осложнений на фоне полихимиотерапии ОЛЛ у детей при наличии полиморфизма C-1053T (rs2031920) в гене CYP2E1
Fig. 3. Frequency of toxic complications during pediatric ALL polychemotherapy for the C-1053T (rs2031920) polymorphism in the CYP2E1 gene

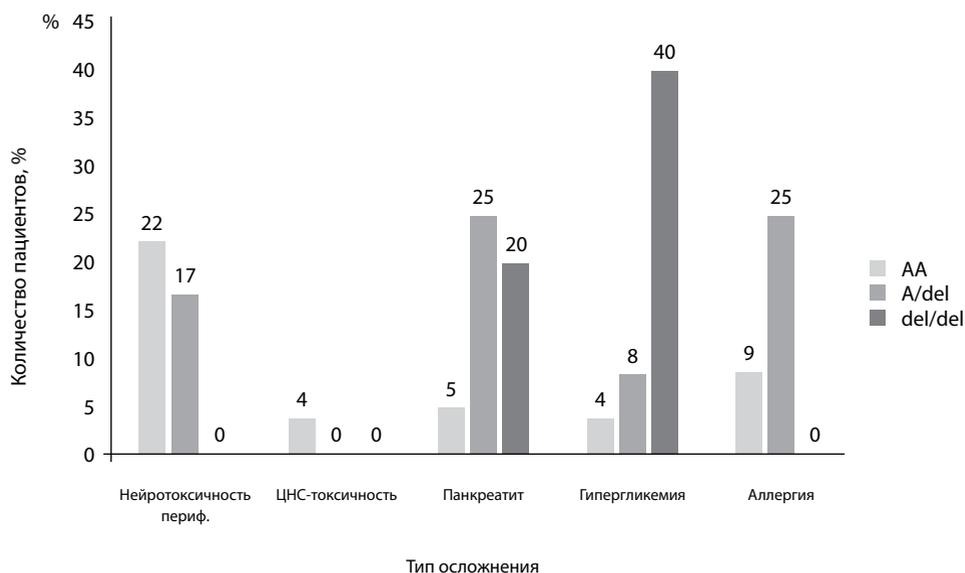


Рис. 4. Частота токсических осложнений на фоне полихимиотерапии ОЛЛ у детей при наличии полиморфизма A2549del (rs35742686) в гене CYP2D6
Fig. 4. Frequency of toxic complications during pediatric ALL polychemotherapy for the A2549del (rs35742686) polymorphism in the CYP2D6 gene

аллель дикого типа, в 6 раз выше вероятность развития острого панкреатита (ОШ=6,4; 95% ДИ 1,23–33,36; $p=0,001$) и в 3 раза аллергических реакций (ОШ=3,5; 95% ДИ 0,77–16,09; $p=0,002$) (рис. 4).

По результатам предыдущего этапа исследования была выполнена балльная оценка показателей на основе анализа абсолютных рисков, что соответствует вкладу каждого из вариантов генотипа генов CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 при определении риска развития токсических осложнений. Согласно полученным значениям с помощью ROC-анализа для каждого из вариантов генотипа генов CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 были определены значения, позволяющие разделить пациентов с низкой и высокой вероятностью развития токсических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ (рис. 5–7).

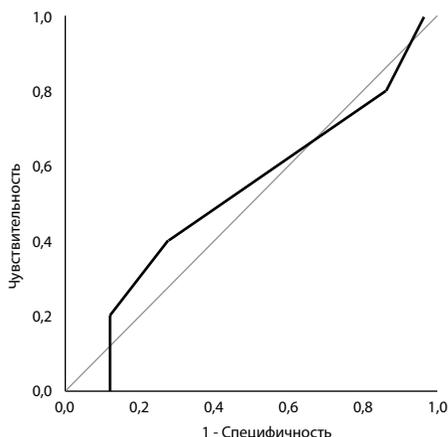


Рис. 5. ROC-анализ оценки риска развития аллергических реакций 3–4-й степени (бронхоспазм, анафилаксия) на фоне полихимиотерапии ОЛЛ у детей

Fig. 5. ROC analysis of risk assessment of allergic reactions of grade 3–4 (bronchospasm, anaphylaxis) during pediatric ALL polychemotherapy

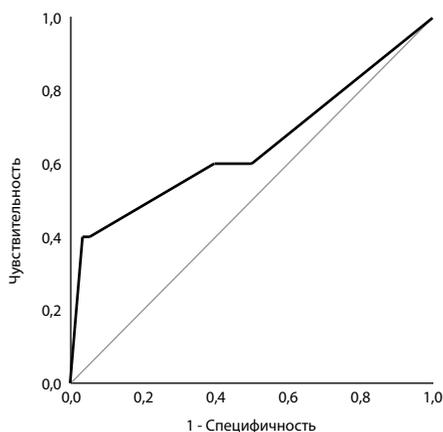


Рис. 6. ROC-анализ оценки риска развития токсического панкреатита 3–4-й степени токсичности на фоне полихимиотерапии ОЛЛ у детей

Fig. 6. ROC analysis of risk assessment of grade 3–4 toxic pancreatitis during pediatric ALL polychemotherapy

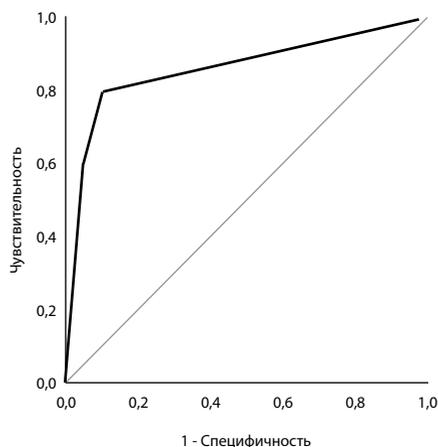


Рис. 7. ROC-анализ оценки риска развития гипергликемии свыше 13,9 мкмоль/л на фоне полихимиотерапии ОЛЛ у детей

Fig. 7. ROC analysis of risk assessment for hyperglycemia greater than 13.9 $\mu\text{mol/L}$ during pediatric ALL polychemotherapy

В ходе проведенных исследований разработан метод оценки вероятности развития панкреатических токсических осложнений, гипергликемии, аллергических реакций при лечении ОЛЛ у детей. Для определения вероятности развития токсических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ у детей полученные при проведении молекулярно-генетических исследований данные вносятся в таблицу с отметкой в соответствующей колонке количества баллов при наличии признака (табл. 1–3). Было определено граничное значение суммы баллов для полученной модели риска развития каждого осложнения в отдельности (панкреатических токсических осложнений, гипергликемии, аллергических реакций). При значении, менее чем граничное, устанавливается низкая вероятность развития токсических осложнений.

**Таблица 1
Индивидуальное прогнозирование вероятности развития панкреатотоксических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ**

**Table 1
Individual prediction of the probability of grade 3–4 pancreatotoxic complications during ALL treatment**

Показатель	Значимость признака в баллах	Результат пациента
AA-генотип A4889G гена CYP1A1	1	
AG-генотип A4889G гена CYP1A1	0	
GG-генотип A4889G гена CYP1A1	10	
AA-генотип A2549del гена CYP2D6	1	
A/del-генотип A2549del гена CYP2D6	3	
del/del-генотип A2549del гена CYP2D6	2	
Всего		

Таблица 2
Индивидуальное прогнозирование вероятности развития гипергликемии свыше 13,9 ммоль/л (3–4-я степень токсичности) при лечении ОЛЛ
Table 2
Individual prediction of the probability of hyperglycaemia above 13.9 mmol/l (grade 3–4 toxicity) during ALL treatment

Показатель	Значимость признака в баллах	Результат пациента
GG-генотип G1846A гена CYP2D6	0	
AG-генотип G1846A гена CYP2D6	1	
AA-генотип G1846A гена CYP2D6	0	
AA-генотип A2549del гена CYP2D6	0	
A/del-генотип A2549del гена CYP2D6	1	
del/del-генотип A2549del гена CYP2D6	4	
CC-генотип C100T гена CYP2D6	0	
CT-генотип C100T гена CYP2D6	1	
TT-генотип C100T гена CYP2D6	1	
Всего		

При наличии суммарного количества баллов выше граничного значения устанавливается высокая вероятность развития токсических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ.

При индивидуальном прогнозировании вероятности развития панкреатотоксических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ учитывают полиморфные варианты генов A4889G гена CYP1A1 и A2549del гена CYP2D6 (табл. 1). Граничное значение суммы баллов для модели риска развития панкреатотоксических осложнений

Таблица 3
Индивидуальное прогнозирование вероятности развития аллергических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ
Table 3
Individual prediction of the probability of grade 3–4 allergic complications during ALL treatment

Показатель	Значимость признака в баллах	Результат пациента
AA-генотип A4889G гена CYP1A1	1	
AG-генотип A4889G гена CYP1A1	3	
GG-генотип A4889G гена CYP1A1	0	
CC-генотип C1053T гена CYP2E1	1	
CT-генотип C1053T гена CYP2E1	0	
TT-генотип C1053T гена CYP2E1	5	
GG-генотип G1293C гена CYP2E1	1	
GC-генотип G1293C гена CYP2E1	2	
AA-генотип A2549del гена CYP2D6	1	
A/del-генотип A2549del гена CYP2D6	3	
del/del-генотип A2549del гена CYP2D6	0	
CC-генотип C100T гена CYP2D6	1	
CT-генотип C100T гена CYP2D6	1	
TT-генотип C100T гена CYP2D6	2	
Всего		



3–4-й степени составило 4 балла. Чувствительность данной модели риска развития панкреатоксических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ составила 80,1%, специфичность – 89,7%, точность – 88,9%.

При индивидуальном прогнозировании вероятности развития гипергликемии свыше 13,9 ммоль/л (3–4-я степень токсичности) при лечении ОЛЛ учитывают полиморфные варианты генов – G1846A гена CYP2D6, C100T гена CYP2D6 и A2549del гена CYP2D6 (табл. 2). Граничное значение суммы баллов для модели риска развития гипергликемии свыше 13,9 ммоль/л (3–4-я степень токсичности) определено в 6 баллов. Для риска развития гипергликемии свыше 13,9 ммоль/л (3–4-я степень токсичности) при лечении ОЛЛ чувствительность модели составила 78,1%, специфичность – 96,6%, точность – 92,1%.

При индивидуальном прогнозировании вероятности развития аллергических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ учитывают полиморфные варианты генов – A4889G гена CYP1A1, C1053T гена CYP2E1, C100T гена CYP2D6 и A2549del гена CYP2D6 (табл. 3). Граничное значение суммы баллов для модели риска развития аллергических осложнений 3–4-й степени составило 7 баллов. Чувствительность данной модели риска развития аллергических осложнений находится в пределах 67,0%, специфичность – 72,4%, точность – 69,8%.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При определении полиморфизма A2455G (rs1048943) в гене CYP1A1 установлена ассоциация мутантного аллеля GG с развитием токсической периферической полинейропатии 3–4-й степени (ОШ=3,9; 95% ДИ 0,23–65,17; $p=0,001$). Гетерозиготный аллель СТ в гене CYP1A1 (T3801C, rs4646903) ассоциирован с вероятностью развития токсических осложнений ЦНС 3–4-й степени в 10 раз выше по сравнению с аллелем дикого типа (ОШ=10,7; 95% ДИ 0,91–125,23; $p=0,0001$). Мутантный аллель ТТ при определении полиморфизма C-1053T (rs2031920) в гене CYP2E1 связан с высоким риском аллергических реакций в виде бронхоспазма и анафилаксии на фоне полихимиотерапии ОЛЛ (ОШ=9,0; 95% ДИ 0,52–156,52; $p=0,0001$). Вероятность развития острого панкреатита у пациентов, имеющих гетерозиготный аллель A/del полиморфного варианта A2549del (rs35742686) в гене CYP2D6, в 6 раз выше по сравнению с пациентами, имеющими аллель дикого типа (ОШ=6,4; 95% ДИ 1,23–33,36; $p=0,001$). При анализе полиморфизма A2549del (rs35742686) в гене CYP2D6 установлено, что мутантный аллель del/del ассоциирован с вероятностью развития гипергликемии свыше 13,9 ммоль/л в 17 раз выше, чем у пациентов с аллелем дикого типа (ОШ=17,3; 95% ДИ 2,06–145,66; $p=0,0001$).

На основе анализа абсолютных рисков в соответствии с вкладом каждого из вариантов генотипа генов CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 определена балльная оценка показателей, которая позволила определить риск развития токсических осложнений 3–4-й степени (панкреатические осложнения, гипергликемия, аллергические реакции) на фоне химиотерапии ОЛЛ. Разработан метод оценки вероятности развития токсических осложнений 3–4-й степени при лечении ОЛЛ у детей.

Полученные результаты валидны для конкретных изученных групп пациентов, поскольку распространенность полиморфизмов и характер их ассоциации с развитием осложнений при лечении ОЛЛ варьируют в различных этнических и расовых группах, а также могут изменяться в зависимости от межгенных взаимодействий, возраста пациента, подтипа лейкоза, вида терапии и др.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Gervasini G., Vagace J.M. (2012) Impact of genetic polymorphisms on chemotherapy toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Frontiers in Genetics. Pharmacogenetics and Pharmacogenomics*, vol. 3, art. 249, 11 p.
2. Ebbesen M.S., Nygaard U., Rosthøj S. et al. (2017) Hepatotoxicity during maintenance therapy and prognosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol.*, vol. 39, no 3, pp. 161–166.
3. Tao G., Huangb J., Moorthy B. et al. (2020) Potential role of drug metabolizing enzymes in chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity and hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, vol. 16, no 11, pp. 1109–1124.
4. Docea A.O., Vassilopoulou L., Fragou D. et al. (2017) CYP polymorphisms and pathological conditions related to chronic exposure to organochlorine pesticides. *Toxicol Rep*, vol. 4, pp. 335–341.
5. Ulusoy G., Arinç E., Adali O. (2007) Genotype and allele frequencies of polymorphic CYP2E1 in the Turkish population. *Arch Toxicol*, vol. 81, pp. 711–718.
6. Wassenaar C.A., et al. (2011) Relationship between CYP2A6 and CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4 variation and smoking behaviors and lung cancer risk. *J Natl Cancer Inst*, vol. 103, no 17, pp. 1342–1346.



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.4.013>
УДК 616.155.194.18-053.2-079.4



Мицура Е.Ф.¹✉, Волкова Л.И.², Ромашевская И.П.¹

¹ Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

² Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета, Минск, Беларусь

Дифференциальная диагностика наследственного сфероцитоза и аутоиммунной гемолитической анемии у детей при помощи гематологических показателей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция, дизайн и написание статьи – Мицура Е.Ф., Ромашевская И.П., Волкова Л.И.; сбор и обработка данных, анализ и интерпретация результатов – Мицура Е.Ф.; окончательное одобрение рукописи – Волкова Л.И.

Подана: 20.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: ronco-gomel@mail.ru

Резюме

Цель. Определить показатели гемограммы, которые можно использовать для дифференциальной диагностики наследственного сфероцитоза и аутоиммунной гемолитической анемии у детей старше 1 года.

Материалы и методы. Были ретроспективно изучены анализы крови 56 детей с наследственным сфероцитозом и 31 ребенка с аутоиммунной гемолитической анемией, выполненные с помощью автоматического гематологического анализатора. Учитывались значения ретикулоцитов, рассчитывались отношения МСНС/МСV, Hb/МСНС, Hb/RDW, МСНС/RDW и МСНС/Ht. Статистический анализ проводился с помощью теста Манна – Уитни и ROC-анализа.

Результаты. Установлена частота встречаемости патологических изменений гемограммы, определены их пороговые значения для дифференциальной диагностики наследственного сфероцитоза и аутоиммунной гемолитической анемии. При наследственном сфероцитозе чаще встречаются повышенные значения ретикулоцитов (>23%), RDW (>12,6%) и МСНС (>34,9 г/дл) и меньшие значения МСV (≤78,5 фл) по сравнению с группой аутоиммунной гемолитической анемии. Наилучшее прогностическое значение для наследственного сфероцитоза имеет отношение МСНС/МСV, его уровни >0,45 соответствуют наследственному сфероцитозу (AUC 0,76; 95% CI 0,66–0,85; Se 62,5%, Sp 90,3%).

Заключение. При наличии у ребенка признаков гемолитической анемии в практике педиатра и детского гематолога необходимо определить уровень ретикулоцитов и провести первичную дифференциальную диагностику наследственного сфероцитоза и аутоиммунной гемолитической анемии. При значениях отношения МСНС/МСV >0,45 диагностируется наследственный сфероцитоз, после чего определяется дальнейший объем обследования.

Ключевые слова: наследственный сфероцитоз, аутоиммунная гемолитическая анемия, гемограмма, дифференциальная диагностика

Mitsura E.¹✉, Volkova L.², Ramashevskaya I.¹

¹ Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

² Institute for Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

The Differential Diagnosis of Hereditary Spherocytosis and Autoimmune Hemolytic Anaemia in Children by Means of Hematological Indicators

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept, design and writing – Mitsura E., Ramashevskaya I., Volkova L.; data collection and processing, analysis and interpretation of results – Mitsura E.; final approval of the manuscript – Volkova L.

Submitted: 20.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: ronco-gomel@mail.ru

Abstract

Purpose. To determine hemogram parameters that can be used for differential diagnostics of hereditary spherocytosis (HS) and autoimmune hemolytic anemia (AIHA) in children above 1 year of age.

Materials and methods. Blood tests performed using an automatic hematology analyzer of 56 children with HS and 31 children with AIHA were retrospectively studied. Reticulocyte count values were taken into account, MCHC/MCV, Hb/MCHC, Hb/RDW, MCHC/RDW and MCHC/Ht ratios were calculated. Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney test and ROC analysis.

Results. The frequency of pathological changes in the hemogram occurrence was established, their threshold values for differential diagnostics of HS and AIHA were determined. In HS, elevated reticulocyte counts (>23%), RDW (>12.6%), MCHC (>34.9 g/dL) and lower MCV values (\leq 78.5 fl) were more common compared to the AIHA group. The MCHC/MCV ratio has the best prognostic value for HS, its levels >0.45 correspond to HS (AUC 0.76; 95% CI 0.66–0.85; Se 62.5%, Sp 90.3%).

Conclusion. In the practice of a pediatrician and pediatric hematologist, when a child has signs of hemolytic anemia, it is necessary to determine the reticulocyte level and conduct a primary differential diagnosis between HS and AIHA. If the MCHC/MCV ratio is >0.45, HS is diagnosed, thereafter the further plan of examination is determined.

Keywords: hereditary spherocytosis, autoimmune hemolytic anemia, hemogram, differential diagnosis

■ ВВЕДЕНИЕ

Гемолитические анемии (ГА) у детей представляют собой обширную группу заболеваний, различающихся по этиологии, патогенезу, клинической картине, методам лечения. Главным признаком ГА является уменьшение продолжительности жизни эритроцитов, что сопровождается реактивным усилением эритропоэза. Для определения тяжести заболевания принимают во внимание уровни гемоглобина (Hb),



билирубина, число ретикулоцитов [1]. В структуре гемолитических анемий преобладают наследственные формы заболеваний, среди которых наиболее часто выявляется наследственный сфероцитоз (НС) [2]. Среди приобретенных форм ГА, не связанных с аномалиями эритроцитов, чаще всего регистрируется аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) [3, 4].

Для лабораторной диагностики ГА у детей широко используются автоматические гематологические анализаторы, которые позволяют определять и основные, и дополнительные параметры гемограммы. Эти показатели можно использовать в диагностике анемий различного генеза [5]. Для этого учитывают объем эритроцитов (Mean Corpuscular Volume, MCV) и среднее содержание гемоглобина в эритроците (Mean Corpuscular Hemoglobin, MCH). Показатели средней концентрации гемоглобина в эритроците (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration, MCHC) и распределения эритроцитов по объему (Red Blood Cell Distribution Width, RDW) также относятся к дополнительным параметрам гемограммы. Для НС характерны следующие изменения: появление сфероцитов и повышение уровня ретикулоцитов в периферической крови, MCV в норме или снижен, а значения MCHC повышены, отмечается анизоцитоз (увеличение RDW) [6–8]. Одновременное повышение MCHC и RDW считается характерным для НС [1]. АИГА обычно нормоцитарная с появлением сфероцитов и ретикулоцитозом периферической крови [9].

Кроме определяемых гематологическим анализатором показателей гемограммы, некоторые авторы предлагают использовать и расчетные индексы на их основе [7]. Так, R. Christensen и др. (2013) было предложено использовать соотношение MCHC/MCV у новорожденных для скрининга НС [10]. Повышенные значения MCHC характерны для НС по сравнению с другими видами анемий у детей [8, 11, 12]. продемонстрировано, что индексы Hb/MCHC, Hb/RDW, MCHC/RDW отражают тяжесть клинического течения НС [13].

Нами ранее была показана возможность первичной диагностики НС с помощью отношений показателей гемограммы (индексов) MCHC/MCV, Hb/MCHC, Hb/RDW и MCHC/RDW и был предложен дополнительный индекс – отношение MCHC и гематокрита (Ht) (MCHC/Ht) [14].

Тактика лечения и последующего наблюдения пациентов с НС и АИГА отличается, а ранняя диагностика НС и тщательное медицинское наблюдение детей позволяет избежать госпитализаций и гемотрансфузий. Поэтому возникает необходимость дифференциальной диагностики этих ГА различного генеза, желательна с помощью простых методик, доступных для педиатров, без использования специальных методов [12].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить показатели гемограммы, которые можно использовать для дифференциальной диагностики НС с АИГА у детей старше 1 года.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективно на базе онкологического гематологического отделения для детей РНПЦ радиационной медицины и экологии человека изучены анализы крови 56 детей с НС старше 1 года жизни и 31 ребенка с АИГА, выполненные с помощью автоматического гематологического анализатора. Учитывались значения ретикулоцитов,

рассчитывались отношения МСНС/MCV, Hb/MCHC, Hb/RDW, MCHC/RDW и MCHC/Ht. Возраст пациентов с НС был от 1 года до 17 лет, медиана 7 лет, мальчиков было 68%. В группе с АИГА возраст пациентов составил от 1 года до 17 лет, медиана 10 лет, 56% мальчиков. Различий по возрасту не установлено ($p=0,23$, тест Манна – Уитни).

Данные исследований заносились в таблицы MS Excel 2010 для последующего анализа. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы Statistica V.6.1. Количественные показатели представлены как медиана (Me) и интерквартильный размах (25–75%), для сравнения данных в двух независимых группах применялся тест Манна – Уитни. Прогностическую значимость различных показателей оценивали с помощью модуля ROC-анализа программы MedCalc v. 11.3. Оценивалась площадь под кривой (AUC) с ее 95% доверительным интервалом (95% CI). Оценка чувствительности (Se) и специфичности (Sp) при оптимальной точке разделения (cut-off) проводилась с помощью индекса Юдена (J) (Youden's index), который рассчитывался по формуле $J = (Se + Sp) - 1$. Статистически значимой считалась 95% вероятность различий ($p < 0,05$).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучены основные показатели гемограммы и значения эритроцитарных индексов у детей с НС в сравнении с пациентами с АИГА. Приведены значения показателей гемограммы и индексов (Me; 25–75%), значимость различий рассчитана с помощью теста Манна – Уитни (табл. 1).

Как видно, значения определяемых и расчетных показателей статистически значимо отличались у детей с НС и АИГА, за исключением значений МСН и индексов Hb/MCHC и Hb/RDW. Значения эритроцитов, гемоглобина и гематокрита отражают тяжесть течения анемического синдрома, поэтому не могут быть использованы для дифференциальной диагностики гемолитических анемий.

Проанализирована частота встречаемости патологических изменений гемограммы у детей с НС. Так, снижение числа эритроцитов менее $3,7 \times 10^{12}/л$ встречалось

Таблица 1
Показатели гемограммы и значения эритроцитарных индексов у детей с НС и АИГА
Table 1
Hemogram parameters and erythrocytic indices in children with HS and AHA

Показатель	НС, n=56	АИГА, n=31	p
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	3,69; 3,36–4,26	3,09; 2,56–4,44	0,026
Гемоглобин, г/л	104; 90,5–116,5	91,3; 78,3–113	0,028
Гематокрит, %	28,5; 25,3–33,1	34,6; 25,7–36,9	0,046
MCV, фл	76,9; 73,3–80,9	81,4; 79,0–85,0	<0,001
МСН, пг	27,7; 26,2–29,0	28,7; 26,1–30,7	0,242
МСНС, г/дл	36,0; 34,8–37,0	33,8; 32,9–35,7	<0,001
RDW, %	18,0; 15,6–27,3	14,8; 10,3–20,9	<0,001
Ретикулоциты, ‰	81,5; 45,5–109,5	5,6; 1,8–11,3	<0,001
МСНС/MCV	0,47; 0,42–0,51	0,41; 0,39–0,43	<0,001
Hb/MCHC	2,86; 2,52–3,33	2,78; 2,36–3,53	0,361
Hb/RDW	5,50; 3,86–6,62	5,80; 4,94–7,42	0,059
MCHC/RDW	1,96; 1,30–2,26	2,33; 1,70–3,30	0,007
MCHC/Ht	1,32; 1,07–1,45	0,97; 0,88–1,42	0,030



в 50,0% случаев, снижение гемоглобина менее 110 г/л – в 57,1%, снижение гематокрита <37,7% – в 96,4% случаев, снижение MCV менее 81,1 фл – в 75,0% случаев. Значения MCH были снижены менее 27 пг в 35,7% случаев, повышены более 31,2 пг – в 7,1%. Повышенные значения MCHC (>35,4 г/дл) выявлены в 62,5% случаев, в 8,9% случаев этот показатель был снижен (менее 31,8 г/дл). Повышение RDW (>14,5%) отмечено в большинстве случаев – 80,4%. У 94,6% пациентов с НС отмечено повышение уровня ретикулоцитов (>12‰), значения которых составили от 10‰ до 312‰, медиана 81,5‰ (25–75%: 46–110‰). В группе детей с АИГА снижение числа эритроцитов менее $3,7 \times 10^{12}/л$ встречалось в 64,5% случаев, снижение гемоглобина менее 110 г/л – в 71,0%, снижение гематокрита <37,7% – в 77,4% случаев, снижение MCV менее 81,1 фл – в 45,2% случаев. Значения MCH были снижены менее 27 пг в 32,3% случаев, повышены более 31,2 пг – в 16,1%. Повышенные значения MCHC (>35,4 г/дл) выявлены в 29,0% случаев, в 16,1% случаев этот показатель был снижен (менее 31,8 г/дл). Повышение RDW (>14,5%) отмечено у 51,6% детей. У 22,6% пациентов с АИГА отмечено повышение уровня ретикулоцитов (>12‰), значения которых составили от 1‰ до 237‰, медиана 5,6‰ (25–75%: 1,8–11,3‰).

Для определения диагностической значимости параметров гемограммы и индексов нами выбраны восемь показателей: MCV, MCHC, RDW, ретикулоциты, отношения MCHC/MCV, Hb/RDW, MCHC/RDW, MCHC/Ht. Для сравнительной количественной оценки использованы значения площади под характеристической кривой (AUC) с ее 95% CI и индекс Юдена (J) (табл. 2).

Подтверждено, что все исследуемые показатели могут быть использованы для диагностики НС (нижние границы 95% CI для AUC превышают 0,5). В порядке убывания прогностического значения они расположились следующим образом: ретикулоциты > MCHC/MCV > MCV > MCHC > RDW > MCHC/RDW > MCHC/Ht > Hb/RDW. Таким образом, наиболее значимыми параметрами следует признать: ретикулоциты, MCHC/MCV, MCV, MCHC. Поскольку значения ретикулоцитов могут отражать активность регенерации костного мозга при любой ГА, мы считаем, что использовать их для дифференциальной диагностики некорректно. Соотношение MCHC/MCV (AUC 0,76) превышает по своей прогностической значимости показатели MCHC и MCV (AUC 0,73) и имеет более высокую специфичность (90,3%) при точке

Таблица 2
Прогностическое значение некоторых показателей гемограммы и индексов для дифференциальной диагностики НС и АИГА у детей
Table 2

Prognostic values of some hemogram parameters and indices in HS and AIHA differential diagnostics

Показатель	AUC; 95% CI	cut-off	Se, %	Sp, %	J
MCV, фл	0,73; 0,62–0,82	≤78,5	64,3	83,9	0,48
MCHC, г/дл	0,73; 0,63–0,82	>34,9	69,6	71,0	0,41
RDW, %	0,72; 0,61–0,81	>12,6	96,4	45,2	0,42
Ретикулоциты, ‰	0,94; 0,87–0,98	>23	91,1	93,6	0,85
MCHC/MCV	0,76; 0,66–0,85	>0,45	62,5	90,3	0,53
Hb/RDW	0,62; 0,51–0,72	≤4,28	32,1	100	0,32
MCHC/RDW	0,68; 0,57–0,77	≤2,29	78,6	54,8	0,33
MCHC/Ht	0,64; 0,53–0,74	>1,04	76,8	58,1	0,35

разделения $>0,45$. Как показано нами ранее [14], уровень $\text{MCHC}/\text{MCV} > 0,44$ позволяет диагностировать НС по сравнению со здоровыми детьми старше 1 года, что очень близко к рассчитанному нами значению.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В практике педиатра и детского гематолога при наличии у ребенка признаков гемолитической анемии необходимо определить уровень ретикулоцитов и провести первичную дифференциальную диагностику между НС и АИГА. Для НС характерны повышенные значения ретикулоцитов ($>23\%$), RDW ($>12,6\%$) и MCHC ($>34,9$ г/дл) и меньшие значения MCV ($\leq 78,5$ фл) по сравнению с группой АИГА. Для дифференциальной диагностики достаточно использовать отношение MCHC/MCV , при значениях которого $>0,45$ диагностируется НС (AUC 0,76; 95% CI 0,66–0,85; Se 62,5%, Sp 90,3%). Педиатру при выявлении подобных сдвигов гемограммы следует определить уровень ретикулоцитов и направить ребенка на консультацию к детскому гематологу для установления дальнейшего объема обследования.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Blanc L., Wolfe L.C. (2016) General considerations of hemolytic diseases, red cell membrane, and enzyme defects. *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology, 6th ed.* (eds. P. Lanzkowsky, J.M. Lipton, J.D. Fish). Amsterdam, Boston, London: Academic Press. Pp. 137–146.
2. Mahajan V., Jain S.K. Hereditary Spherocytosis. *NeoReviews*. 2016;17(12):e697–e704. doi: 10.1542/neo.17-12-e697
3. Packman C.H. The clinical pictures of autoimmune hemolytic anemia. *Transfus. Med. Hemother.* 2015;42(5):317–324. doi: 10.1159/000440656
4. Hill A., Hill Q.A. Autoimmune hemolytic anemia. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2018;2018(1):382–389. doi: 10.1182/asheducation-2018.1.382
5. Shean R.C., Williams M.C., Rets A.V. Advances in Hematology Analyzers Technology. *Clin. Lab. Med.* 2024;44(3):377–386. doi: 10.1016/j.cll.2024.04.001
6. Mullier F., Lainey E., Fenneteau O., et al. Additional erythrocytic and reticulocytic parameters helpful for diagnosis of hereditary spherocytosis: results of a multicentre study. *Ann. Hematol.* 2011;90(7):759–768. doi: 10.1007/s00277-010-1138-3
7. Emilse L., Cecilia H., Maria T.M., et al. Cryohemolysis, erythrocyte osmotic fragility, and supplementary hematimetric indices in the diagnosis of hereditary spherocytosis. *Blood research.* 2018;53(1):10–17. doi: 10.5045/br.2018.53.1.10
8. Kutter D., Gulbis B. Hereditary spherocytosis veiled by anemia and iron deficiency. *Clin. Lab.* 2005;51(7–8):411–418.
9. Michalak S.S., Olewicz-Gawlik A., Rupa-Matysek J., et al. Autoimmune hemolytic anemia: current knowledge and perspectives. *Immun. Ageing.* 2020;17(1):38. doi: 10.1186/s12979-020-00208-7
10. Christensen R., Yaish H., Henry E., et al. A simple method of screening newborn infants for hereditary spherocytosis. *J. Appl. Hematol.* 2013;4(1):27–32.
11. Farias M.G., Freitas P.A.C. Percentage of hyperdense cells: Automated parameter to hereditary spherocytosis screening. *Clin. Biochem.* 2015;48(18):1341–1343. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2015.07.025
12. Liao L., Xu Y., Wei H., et al. Blood cell parameters for screening and diagnosis of hereditary spherocytosis. *J. Clin. Lab. Anal.* 2019 May;33(4):e22844. doi: 10.1002/jcla.22844
13. Rocha S., Costa E., Rocha-Pereira P., et al. Complementary markers for the clinical severity classification of hereditary spherocytosis in unsplenectomized patients. *Blood cells, molecules & diseases.* 2011;46(2):166–170. doi: 10.1016/j.bcmd.2010.11.001
14. Mitsura E., Volkova L. The Hematological Indicators in the Diagnostics of Hereditary Spherocytosis in Pediatrician's Practice. *Hematology. Transfusiology. Eastern Europe.* 2022;8(3):324–330. doi: 10.34883/Pl.2022.8.3.012 (in Russian)



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.4.010>
УДК 616.155.342: 616.411-003.972: 616.419



Трубкина А.С.¹✉, Искров И.А.², Лендина И.Ю.¹, Смольникова В.В.¹, Лебедева Т.В.¹

¹ Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Беларусь

² Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета, Минск, Беларусь

Маркеры неблагоприятного прогноза у пациентов с миелодиспластическим синдромом: способ прогнозирования исхода заболевания

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – все авторы; сбор материала, обработка – Трубкина А.С., Искров И.А.; написание текста – Трубкина А.С.

Подана: 10.09.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: anyatrubkina@mail.ru

Резюме

Терапия выбирается в зависимости от риска, потребности в переливании компонентов крови, процента бластов в костном мозге и цитогенетического профиля. В группах низкого риска целью лечения является снижение потребности в заместительной терапии и профилактика трансформации в более высокий риск или острый миелодиспластический лейкоз. В группах более высокого риска цель – продлить выживание. В настоящее время нет утвержденных критериев выбора терапии пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС) на основе используемых классификаций и прогностических шкал, схем лечения при прогрессии МДС или его рефрактерных форм.

Терапия МДС является сложной проблемой вследствие неблагоприятных демографических характеристик основной группы пациентов (средний возраст 65–70 лет), имеющих большое количество сопутствующих заболеваний и низкую толерантность к возможному проведению интенсивной терапии. Необходимо также отметить, что при трансформации в ОМЛ такие пациенты демонстрируют более низкий ответ на стандартную терапию, чем пациенты de novo ОМЛ [1].

В настоящее время IPSS и IPSS-R остаются наиболее часто используемыми прогностическими моделями в клинической практике, но при их применении на практике также выявлены некоторые недостатки, так как шкалы IPSS и IPSS-R были разработаны для пациентов с впервые выявленным МДС, которые не получали специфической терапии [2, 3].

Ключевые слова: миелодиспластический синдром, иммунофенотипические маркеры, цитогенетические маркеры, неблагоприятный прогноз, прогностическая шкала

Trubkina H.¹✉, Iskrou I.², Lenzina I.¹, Smolnikova V.¹, Lebedeva T.¹

¹ Minsk Scientific and Practical Center for Surgery and Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

² Institute of Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Markers of Unfavorable Prognosis in Patients with Myelodysplastic Syndrome: Method for Prediction of Disease Outcome

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: the concept and design of the study – all authors; collection of material, processing – Trubkina H., Iskrou I.; writing of the text – Trubkina H.

Submitted: 10.09.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: anyatrubkina@mail.ru

Abstract

Therapy is selected based on risk, need for transfusion of blood components, percentage of blasts in the bone marrow and cytogenetic profile. In low-risk groups, the goal of treatment is to reduce the need for replacement therapy and prevent transformation to higher risk or acute myeloid leukemia. In higher risk groups, the goal is to prolong survival. Currently, there are no approved criteria for selecting therapy for patients with myelodysplastic syndrome (hereinafter referred to as MDS) based on the classifications and prognostic scales used, treatment regimens for progression of MDS or its refractory forms.

Treatment of MDS is a complex problem due to the unfavorable demographic characteristics of the main group of patients (average age 65–70 years), who have a large number of concomitant diseases and low tolerance to possible intensive therapy. It should also be noted that when transformed into AML, such patients demonstrate a lower response to standard therapy than patients with de novo AML [1].

Currently, the IPSS and IPSS-R remain the most commonly used prognostic models in clinical practice, but some shortcomings have also been identified in their use in practice, since the IPSS and IPSS-R scales were developed for patients with newly diagnosed MDS who did not receive specific treatment. therapy [2, 3].

Keywords: myelodysplastic syndrome, immunophenotypic markers, cytogenetic markers, unfavorable prognosis, prognostic score

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить иммунофенотипические и молекулярно-цитогенетические маркеры неблагоприятного прогноза у взрослых пациентов с миелодиспластическим синдромом.



■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 62 пациента с впервые выявленным МДС на базе гематологических отделений ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» за 5 лет наблюдений. Первично-диагностический комплекс обследований включал выполнение иммунофенотипического и молекулярно-цитогенетического исследований аспирата костного мозга. Медиана возраста составила 62 года (37–81 год). Выявленные цитогенетические aberrации представлены в табл. 1.

В табл. 2 представлено распределение пациентов по различным классификациям МДС. Современные прогностические классификации разнятся и не позволяют спрогнозировать исход пациентов с МДС.

С целью последующего прогнозирования вероятного возможного исхода на фоне наблюдения и проведенного лечения пациентов с МДС нами использована модель множественных состояний.

Модель множественных состояний – это модель для процесса, например, описывающего историю жизни человека, который в любое время занимает одно из нескольких возможных состояний. Может описывать несколько возможных событий

Таблица 1
Цитогенетические aberrации у пациентов с впервые выявленным МДС
Table 1
Cytogenetic aberrations in patients with newly diagnosed MDS

Цитогенетические нарушения	Число пациентов
Норма	22
5q-	1
20q-	3
+8	6
Структурные изменения 7-й хр.	6
inv(3)\t(3q)\3q-	2
complex (3) aberrации	10
del 11	1
+21	1
Рearranжировка MLL(11q23)	1
-13	1
TP53	1

Таблица 2
Классификация пациентов с МДС
Table 2
Classification of patients with MDS

Классификации	Число пациентов
IPSS:	
Высокий	10
Промежуточный-2	23
Промежуточный-1	19
Низкий	5
IPSS-R:	
Очень высокий	21
Высокий	16
Промежуточный	9
Низкий	9
Очень низкий	2

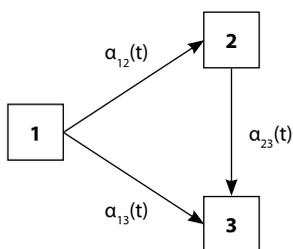


Рис. 1. Модель «заболевание – смерть»
Fig. 1. Disease-death model

для одного человека или зависимости между несколькими лицами. События являются переходами между состояниями [4]. Данный класс моделей дает очень гибкий подход, который позволяет моделировать практически любую ситуацию. Это особенно актуально для моделирования различных мероприятий, которые имеют зависимость от события, таких как появление болезни, изменения риска смерти. Он также может моделировать парные данные. Это полезно для повторяющихся событий, но имеет ограничения. Модели Маркова выделяются гораздо проще, чем другие модели из вероятностной точки зрения, и это упрощает оценку правдоподобия. Это также дает возможность рассмотреть, есть ли зависимость от краткосрочного или долгосрочного характера.

Для построения модели использовался статистический пакет R и пакет *msSurv* для оценки модели трех состояний «заболевание – смерть» (рис. 1), где $\alpha_{12}(t)$ – функция вероятности перехода в состояние 2, которая зависит от времени наблюдений; $\alpha_{13}(t)$ – функция вероятности перехода в состояние 3, $\alpha_{23}(t)$ – функция вероятности перехода в состояние 3 из состояния 2.

Состояния кодировались следующим образом:

- «1» – диагноз первичный МДС;
- «2» – трансформация в лейкоз;
- «3» – смерть.

Затем исследовались риски трансформации и риск смерти на базе модели Кокс – Маркова для трех переходов: 1→3 (диагноз – смерть), 1→2 (диагноз – трансформация), 2→3 (трансформация – смерть). Результаты приведены ниже.

Многофакторный анализ модели «заболевание – смерть» осуществлялся моделью Кокс – Маркова с помощью пакета *r3state.msm*. В многофакторный анализ включались переменные возраст, пол, количество ростков цитопении, бласты костного мозга, периферической крови, иммунофенотипические и цитогенетические маркеры, характерные для МДС.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для подтверждения статистической значимости полученных данных проведен анализ с помощью модели Кокс – Маркова, а именно модели трех состояний «заболевание – смерть», в которой отражена вероятность влияния наличия конкретного параметра на риск наступления смерти, а также риска трансформации в острый



Таблица 3
Многофакторный анализ модели трех состояний при МДС у взрослых
Table 3
Multivariate analysis of the three-state model for MDS in adults

Параметр	События и вероятность					
	1→3 (диагноз – смерть)		1→2 (диагноз – трансформация)		2→3 (трансформация – смерть)	
	HR (95% ДИ)	p	HR (95% ДИ)	p	HR (95% ДИ)	p
CD38 per %	0,98 (0,97–1,0)	0,042		0,460		0,304
CD38 <50%	3,7 (1,2–11,5)	0,022		0,460		0,304
CD25=0		0,932		0,464	3,2 (0,9–11,3)	0,068
CD25 <5	0,3 (0,1–0,9)	0,033		0,692	6,3 (1,4–28,4)	0,017*
CD71 per %		0,330	1,018 (1,001–1,035)	0,034		0,946
CD71 ≥65%		0,791	4,1 (1,35–12,4)	0,013		NA
CD33 per %		0,339		0,636	0,98 (0,95–1)	0,090
CD33 <50%		0,343		0,811	6,6 (1,3–34,7)	0,026
CD13 per %	1,05 (1,01–1,09)	0,014		0,159		0,256
CD13 >50%	8,7 (1,1–67,8)	0,040		0,411		0,445
CD13 >75%	2,9 (0,89–9,6)	0,076	2,8 (1,1–7,1)	0,034		0,228
Compl>3	5,8 (1,4–24,6)	0,016	2,8 (0,86–9,0)	0,087	0,22 (0,06–0,84)	0,027
Трисомия 8		0,319		0,698	7,9 (0,71–88)	0,093

лейкоз с последующим риском наступления смерти. Данный статистический метод позволяет определить значимость различных факторов в созданной модели. Полученные данные представлены в табл. 3.

Таким образом, выделены иммунофенотипические и цитогенетические маркеры неблагоприятного прогноза:

- модель «диагноз – смерть»:
 - CD38 <50% HR 3,7 (1,2–11,5 ДИ; p=0,022);
 - CD13 >50% HR 8,7 (1,1–67,8 ДИ; p=0,04);
 - комплексные aberrации >3 HR 5,8 (1,4–24,6 ДИ; p=0,015);
- модель «диагноз – трансформация»:
 - CD71 ≥65% HR 4,1 (1,35–12,4 ДИ; p=0,013);
 - CD13 >75% HR 2,8 (1,1–7,1 ДИ; p=0,034);
 - комплексные aberrации >3 HR 2,8 (0,86–9,0 ДИ; p=0,087);
- модель «трансформация – смерть»:
 - CD25 <5% HR 6,3 (1,4–28,4 ДИ; p=0,017);
 - CD33 <50% HR 6,6 (1,3–34,7 ДИ; p=0,026);
 - трисомия 8-й хромосомы HR 7,9 (0,71–88 ДИ; p=0,093);
 - комплексные aberrации >3 HR 0,22 (0,06–0,84 ДИ; p=0,027).

Вероятность различных состояний в зависимости от времени с момента постановки диагноза МДС представлена на рис. 2, где State 1 – оценка вероятности нахождения в состоянии «диагноз – трансформация», State 2 – оценка вероятности нахождения в состоянии «трансформация – смерть», State 3 – оценка вероятности нахождения в состоянии «диагноз – смерть».

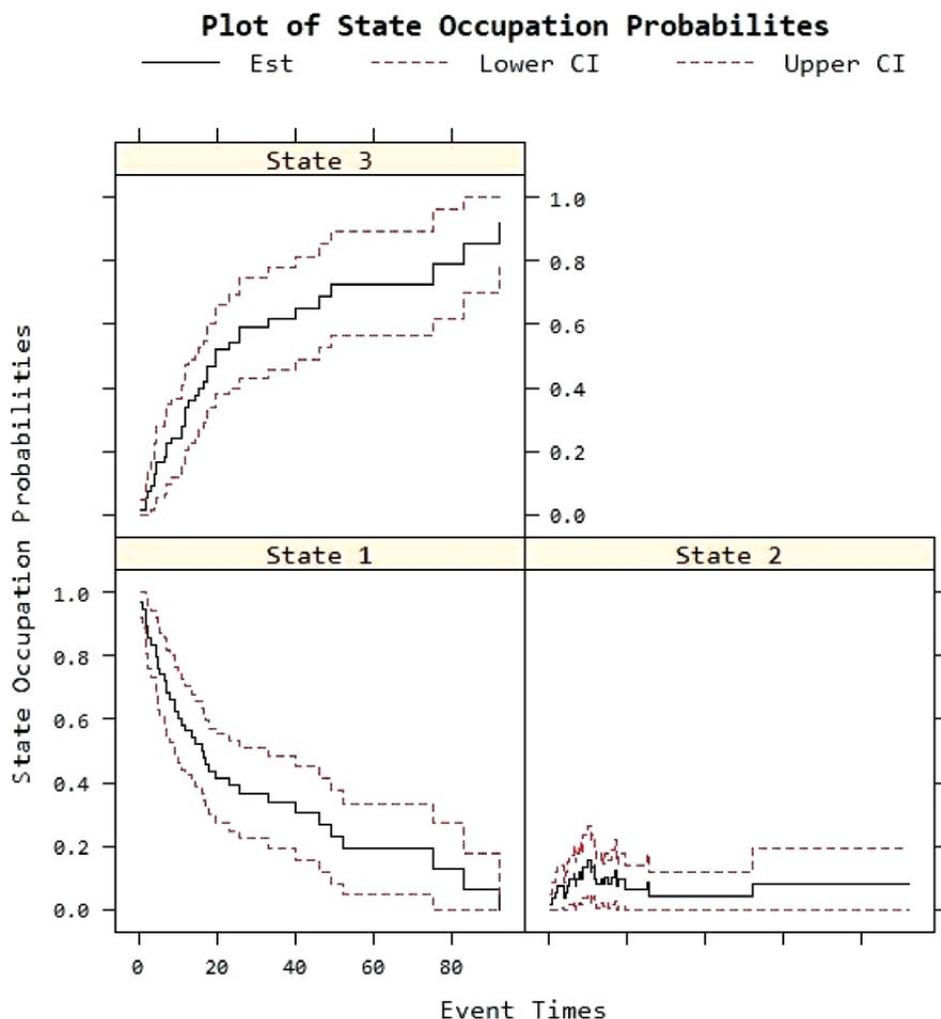


Рис. 2. Вероятность различных состояний в зависимости от времени с момента постановки диагноза у пациентов с МДС
Fig. 2. Probability of various conditions depending on time since diagnosis in patients with MDS

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами определены наиболее клинически значимые лабораторные (иммунофенотипические, цитогенетические) маркеры при постановке диагноза «миелодиспластический синдром»: CD38, CD13, CD71, CD33, комплексные цитогенетические аберрации >3.

На основании выявленных маркеров неблагоприятного прогноза у пациентов с впервые диагностированным МДС необходимо проведение дифференцированной химиотерапии.



Выявление иммунофенотипических и цитогенетических маркеров неблагоприятного прогноза позволит клиницистам дифференцированно подойти к началу индукционной терапии.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Hoffman R. et al. *The myelodysplastic syndromes*. Hematology: Basic Principles and Practice. (ed. 3rd): New York: Churchill Livingstone. 2000; 1106–1129.
2. Cutler C.S. et al. A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low-risk myelodysplasia is associated with improved outcome. *Blood*. 2004;104:579–585.
3. Adès L., Itzykson R., Fenaux P. Myelodysplastic syndromes. *Lancet Lond Engl*. 2014;383:2239–2252.
4. *Statistical analysis program. Survival analysis*. [Electron. resource]. Available at: <http://bourabai.kz/tpoi/statistica/gl14.html>



Конопля Н.Е.✉, Савич Т.В., Давыдов Д.А., Быданов О.И., Евмененко А.А.,
Портянко А.С., Суколинская Е.В., Поляков С.Л.
Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской
радиологии имени Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Результаты лечения мантийноклеточной лимфомы у взрослых пациентов в Республике Беларусь в 2018–2023 гг.

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Н.Е. Конопля – концепция и дизайн исследования, обзор литературы по теме статьи, написание текста статьи; Т.В. Савич, Д.А. Давыдов – сбор и обработка материала, редактирование; О.И. Быданов, А.А. Евмененко – статистическая обработка, редактирование; Е.В. Суколинская, А.С. Портянко – анализ данных, редактирование; С.Л. Поляков – научное руководство.

Подана: 03.09.2024

Принята: 30.10.2024

Контакты: nkonoplya@mail.ru

Резюме

Введение. Мантийноклеточная лимфома относится к группе зрелых В-клеточных неходжкинских лимфом, имеет плохой прогноз при общей выживаемости 3–5 лет. Данный показатель удалось улучшить посредством внедрения иммунохимиотерапии с использованием цитарабина и анти-CD-20-антител, добавления консолидации высокодозной полихимиотерапией с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК). Введение поддерживающей терапии ритуксимабом для пациентов, которым не показана аутоТГСК, значительно улучшило показатели выживаемости при мантийноклеточной лимфоме.

Цель. Оценить уровень заболеваемости мантийноклеточной лимфомой, применяемые в повседневной практике режимы химиотерапии, выполнение аутоТГСК, выживаемость без прогрессирования и общую выживаемость при терапии первой линии.

Материалы и методы. В нашем исследовании проанализированы данные 225 взрослых пациентов с диагнозом «мантийноклеточная лимфома» за 2018–2022 гг. У 188 пациентов диагноз был подтвержден Республиканским референс-центром по молекулярно-генетической и патологоанатомической диагностике лимфопролиферативных заболеваний, злокачественных новообразований мягких тканей и ЦНС РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова. Пациенты (n=37) без подтверждения диагноза референс-центром были исключены из анализа. Статистическая обработка данных выполнена посредством программы R-statistics версия 4.1.1, The R Foundation for Statistical Computing, 2021.

Результаты. Общая выживаемость и выживаемость без прогрессирования для всей группы пациентов в течение 6 лет наблюдения составили $46\pm 5\%$ и $14\pm 4\%$ при медиане общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования 56,22 (95% ДИ 40,43–86,42) и 26,32 (95% ДИ 21,41–29,05) месяца соответственно. Наиболее часто применяемым режимом химиотерапии у пациентов любого возраста был ритуксимаб, бендамустин (RB). Цитарабинсодержащие режимы у пациентов в возрасте



до 65 лет использовались лишь в 12% случаев. Пациенты в возрасте до 65 лет имели лучшую выживаемость, чем пациенты старше 65 лет: медиана выживаемости без прогрессирования составила 28,09 (95% ДИ 22,63–51,25) и 15,63 (95% ДИ 9,08–31,09) месяца соответственно. Пациенты, получавшие лечение по схемам «ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизолон» (R-CHOP) (n=66), RB (n=47) и цитарабинсодержащим схемам (n=17), имели схожие медианы выживаемости без прогрессирования: 26,94 (95% ДИ 22,11–51,25), 24,93 (95% ДИ 17,63–72,0) и 26,94 (95% ДИ 22,11–28,45) месяца соответственно. Регрессионный анализ Кокса показал, что отсутствие поддерживающей терапии ритуксимабом, возраст старше 65 лет, высокий риск МИПИ, ECOG \geq 2, а также непротокольное лечение были связаны со значительно более низкими значениями медиан выживаемости.

Выводы. Результаты лечения в нашей когорте оказались хуже, чем в других исследованиях, особенно у пациентов в возрасте младше 65 лет. Полученные данные отображают повседневную практику лечения данной категории пациентов и дают дополнительные сведения для планирования будущих исследований оценки новых схем лечения мантийноклеточной лимфомы.

Ключевые слова: мантийноклеточная лимфома, общая выживаемость, выживаемость без прогрессирования, иммунохимиотерапия, МИПИ

Konoplya N.✉, Savich T., Davydov D., Bydanov O., Evmenenko A., Portyanko A., Sukolinskaya E., Polyakov S.

N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Belarus

Mantle Cell Lymphoma Treatment Results in Adult Patients in the Republic of Belarus 2018–2023

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Konoplya N. – research concept and design, literature review on the topic of the article, writing the text of the article; Savich T., Davydov D. – collection and processing of material, editing; Bydanov O., Evmenenko A. – statistical processing, editing; Sukolinskaya E., Portyanko A. – data analysis, editing; Polyakov S. – scientific guide.

Submitted: 03.09.2024

Accepted: 30.10.2024

Contacts: nkonoplya@mail.ru

Abstract

Introduction. Mantle cell lymphoma (MCL) is mature B-cell non-Hodgkin lymphoma (NHL) with poor prognosis and overall survival (OS) varying between 3–5 years. OS significantly improved upon the introduction of immunochemotherapy with cytarabine and anti-CD20-antibodies, addition of consolidation by high-dose polychemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation (autoHSCT). Supportive therapy with rituximab in patients ineligible for autoHSCT significantly improved survival in MCL.

Purpose. To assess MCL incidence, real-practice chemotherapeutic regimens used, the frequency of autoHSCT in MCL, progression free survival (PFS), and OS depending on first-line treatment.

Materials and methods. the study included data-analysis of 225 adult patients with MCL diagnosed in 2018–2022. In 188 cases, MCL was confirmed by Molecular Genetics

and Pathology Diagnostics State Reference Centre for Lymphoproliferative, Soft Tissue and CNS tumors (reference-center) of N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus. Patients (n=37) without reference-center confirmation of initial MCL diagnosis were excluded from the analysis. Statistical analysis was carried out in R-statistics v.4.1.1, The R Foundation for Statistical Computing, 2021.

Results. OS and PFS for all the patients during the 6-year observation period were $46\pm 5\%$ и $14\pm 4\%$. Median OS and PFS were 56,22 (95% CI 40,43–86,42) and 26,32 (95% CI 21,41–29,05) months respectively. The most commonly used chemotherapeutic regimen in all the age groups was rituximab with bendamustine (RB). Only 12% of patients under 65 y.o. received cytarabine-containing regimens. Patients under 65 y.o. had higher survival rates compared with patients above 65 y.o.: PFS was 28,09 (95% CI 22,63–51,25) and 15,63 (95% CI 9,08–31,09) months respectively. Patients treated with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisolone (R-CHOP) (n=66), RB (n=47), and cytarabine-containing schemes (n=17) had near similar median: 26,94 (95% CI 22,11–51,25), 24,93 (95% CI 17,63–72,0) and 26,94 (95% CI 22,11–28,45) months respectively. Cox regression analysis revealed that the absence of rituximab supportive therapy, age >65 years, MIPI high-risk, ECOG ≥ 2 , and off-protocol treatment were associated with significantly lower median survival.

Conclusion. Treatment results analysis in our cohort showed worse outcomes compared with other studies, especially in patients aged <65 years. This data reflects real routine practice in management of MCL patients and gives necessary information for planning further MCL treatment-schemes studies.

Keywords: mantle cell lymphoma, overall survival, progression free survival, immunochemotherapy, MIPI

■ ВВЕДЕНИЕ

Мантийноклеточная лимфома (МКЛ) относится к группе зрелых В-клеточных неходжкинских лимфом. Доля МКЛ в структуре неходжкинских лимфом в США и Европе варьирует от 3% до 7%, при этом заболеваемость составляет 4–8 случаев на миллион человек в год [1–3]. Заболеваемость увеличивается с возрастом, средний возраст на момент постановки диагноза составляет 68 лет. Примерно три четверти пациентов с МКЛ – мужчины.

С позиции морфологии МКЛ принадлежит к группе мелкоклеточных лимфом. Генетическим маркером МКЛ является транслокация t(11;14), ассоциированная с экспрессией белка cyclin D1 в ядрах опухолевых клеток. Помимо экспрессии cyclin D1, высокоспецифичной (но не абсолютной) иммунофенотипической чертой клеток МКЛ является экспрессия CD5 и SOX11.

Клиническое поведение МКЛ варьирует от вялотекущего, не требующего терапии в течение многих лет до высокоагрессивного, характеризующегося плохим прогнозом. На момент первичной диагностики у пациентов, как правило, наблюдается лимфаденопатия нескольких локализаций. У большинства пациентов диагностируется запущенная стадия заболевания (стадия III, IV по системе Анн-Арбор/Лугано). Экстранодальное распространение встречается у 90% пациентов и чаще всего заключается в поражении костного мозга (53–82%), вовлечении периферической



крови (50%), печени (25%), полых органов желудочно-кишечного тракта (20–60%), селезенки (40%) [4]. В некоторых случаях клинически преобладают лейкоэмические проявления в сочетании с массивной спленомегалией. Эти ненодальные лейкоэмические случаи часто характеризуются более вялотекущим клиническим течением. Согласно 5-му изданию классификации опухолей гемопозитической и лимфоидной тканей ВОЗ (Haematolymphoid Tumours (5th ed.), WHO IARC, 2022) МКЛ существует в двух клинико-морфологических формах: 1) собственно МКЛ (80–90% случаев) и 2) лейкоэмическая ненодальная МКЛ (10–20% случаев) [5, 6]. Обе формы характеризуются патогномоничной транслокацией $t(11;14)(q13;q32)$, приводящей к активации гена *CCND1* и гиперпродукции соответствующего белка. Лейкоэмическая ненодальная МКЛ характеризуется отсутствием либо незначительной степенью поражения лимфатических узлов, отсутствием экспрессии *SOX11* опухолевыми клетками, индолентным биологическим поведением.

В зависимости от цитоморфологии опухолевых клеток различают классический, плеоморфный и бластоидный варианты. Два последних ассоциированы с более высокой пролиферативной активностью, демонстрируют более агрессивное клиническое течение [7].

Традиционно МКЛ была связана с плохим прогнозом при средней общей выживаемости (ОВ) 3–5 лет. Данный показатель удалось значительно улучшить посредством внедрения иммунохимиотерапии с использованием цитарабина и анти-CD-20-антител, а также добавления консолидации высокодозной полихимиотерапией с аутоТГСК [8, 9]. Более того, введение поддерживающей терапии ритуксимабом, особенно для тех пациентов, которым не показана аутоТГСК, значительно улучшило показатели выживаемости при МКЛ.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить уровень заболеваемости МКЛ, применяемые в повседневной практике режимы химиотерапии, выполнение аутоТГСК, а также ОВ и выживаемость без прогрессирования (ВБП) при проведении терапии первой линии.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В нашем исследовании проанализированы данные 225 взрослых пациентов с диагнозом МКЛ за 2018–2022 гг., зарегистрированных в Белорусском канцер-регистре (БКР). Критериями включения являлись: гистологическое подтверждение МКЛ в соответствии с диагностическими критериями, изложенными в 5-м издании классификации опухолей гемопозитической и лимфоидной тканей ВОЗ (Haematolymphoid Tumours (5th ed.), WHO IARC, 2022), возраст 18 лет и старше на момент постановки диагноза. Отбор данных из БКР осуществлялся по коду С83.1 Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) и морфологическому коду М 9673.3 МКБ-О-3.

У 188 пациентов диагноз был подтвержден референс-центром РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова (РНПЦ ОМР). Первичная диагностика и определение тактики ведения у 139 пациентов осуществлялись в условиях РНПЦ ОМР. Материал 49 пациентов был направлен региональными учреждениями здравоохранения с целью консультации и выполнения дополнительных иммуногистохимических и/или молекулярно-генетических исследований. Ввиду

присущего МКЛ относительно высокоспецифичного иммунофенотипа (CD5+, cyclin D1+, SOX11+) диагностика данного вида лимфопролиферативного заболевания в большинстве случаев не вызывала существенных затруднений при достаточном объеме диагностически значимого материала. Анализ результатов пересмотра входящих случаев, направленных в референс-центр, представлен на рис. 1.

В 94% случаев диагноз был правильно установлен в направившем учреждении. В 6% случаев имела место ошибочная диагностика МКЛ в связи с наличием экспрессии cyclin D1 в опухолевых клетках. Несмотря на высокую специфичность данного маркера, наличие экспрессии cyclin D1 в клетках лимфоидного инфильтрата не является единственным и достаточным критерием верификации МКЛ. Так, в одном случае направительный диагноз МКЛ был пересмотрен в пользу нодального поражения при волосатоклеточном лейкозе в связи с отсутствием коэкспрессии CD5, SOX11, транслокации t(11;14)(q13;q32) в опухолевых клетках, а также в связи с имеющимися анамнестическими указаниями на наличие у пациента волосатоклеточного лейкоза. В двух случаях экспрессия cyclin D1 была выявлена в опухолевых клетках при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. При этом экспрессия cyclin D1 не сопровождалась наличием в опухолевых клетках t(11;14)(q13;q32), а также коэкспрессией CD5, SOX11. Таким образом, при проведении верификации МКЛ следует учитывать, что транслокация t(11;14)(q13;q32) не является единственным механизмом гиперэкспрессии cyclin D1, которая может наблюдаться при ряде других лимфопролиферативных заболеваний.

У 37 пациентов диагноз не был подтвержден референс-центром, в связи с чем они были исключены из анализа (рис. 2).

Первичная медицинская документация о 139 пациентах, получавших лечение в РНПЦ ОМР, была доступна как в электронном виде, так и на бумажном носителе. Информация для последующего анализа о 49 пациентах, получавших лечение в региональных организациях здравоохранения, извлекалась из БКР. На основании



Рис. 1. Структура результатов пересмотра консультативного материала, направленного в референс-центр с диагнозом МКЛ

Fig. 1. Structure of the results of the revision of advisory material sent to the reference center with a diagnosis of MCL

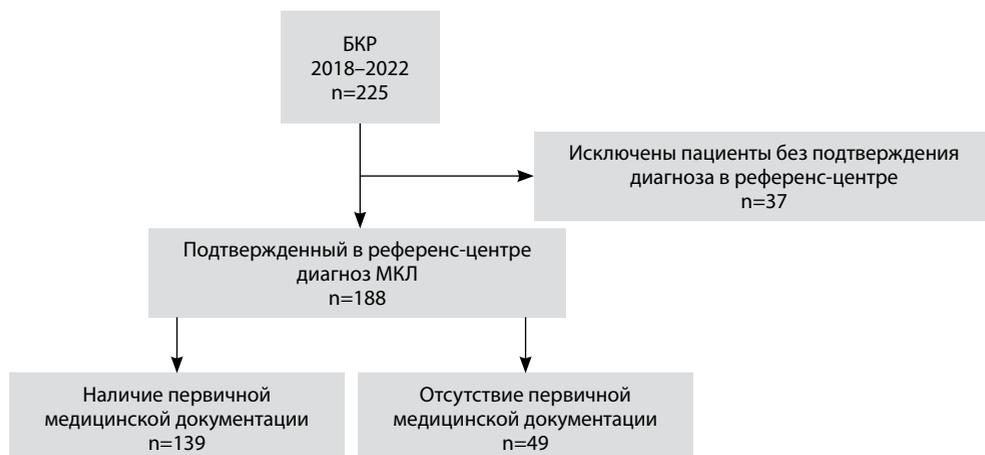


Рис. 2. Дизайн ретроспективного исследования
Fig. 2. Retrospective study design

информации из БКР и первичной медицинской документации создана клиническая база данных пациентов с МКЛ, использованная для дальнейшего статистического анализа.

Статистический анализ

ОВ и ВБП определяли с использованием метода Каплана – Мейера.

Для определения ОВ использовался факт наступления смерти, время наблюдения рассчитывалось как промежуток времени от начала лечения до наступления смерти. Живые пациенты цензурировались на 01.11.2023.

Для определения ВБП использовались следующие события: прогрессирование/ рецидив и смерть, время наблюдения рассчитывалось как промежуток времени от начала лечения до наступления события. Пациенты без событий цензурировались на 01.11.2023.

Статистическая значимость различий кривых выживаемости оценивалась с помощью критерия Log-rank.

Для многофакторного анализа использовался регрессионный анализ Кокса, его результаты представлены в виде диаграммы Forest Plot.

Все статистические расчеты проводились с использованием программы R-statistics версия 4.1.1, The R Foundation for Statistical Computing, 2021 ($p < 0,05$).

Методы статистического анализа позволили выявить важные закономерности и тенденции в представленных результатах, обеспечивая основу для интерпретации данных и формирования выводов.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

По данным БКР, в Республике Беларусь за 2013–2022 гг. диагноз МКЛ был установлен у 447 пациентов, что составляет 5,7% (около 6%) от всех случаев неходжкинских лимфом.

Стандартизованный (World) показатель заболеваемости составил 0,31 на 100 000 взрослого населения (0,48 среди мужчин и 0,19 среди женщин).

Базовые характеристики пациентов даны в табл. 1. Медиана возраста пациентов составила 64,38 года (диапазон 30,44–93,01).

Режимы иммунохимиотерапии, примененные в первой линии терапии, можно разделить на следующие: R-CHOP, RB и цитарабинсодержащие (включали все режимы с цитарабином, такие как R-DHAB, альтернирующий R-CHOP/R-DHAB, NORDIC и др.). Непротокольное лечение включало в себя: RCV (ритуксимаб, циклофосфан,

Таблица 1
Клиническая характеристика пациентов с документированной первой линией лечения МКЛ
Table 1
Clinical characteristics of patients with documented 1st line treatment for MCL

Характеристики	Все пациенты		R-CHOP		RB		Цитарабинсодержащие режимы		Другие режимы	
	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
Всего	188	100,0	66	100,0	47	100,0	17	100,0	58	100,0
Возраст, лет, медиана										
<65 лет	98	52,1	43 ^{1,2}	65,2	17 ^{1,3}	36,2	17 ^{2,3}	100,0	21	36,2
≥65 лет	90	47,9	23	34,8	30	63,8	0	0,0	37	63,8
Пол, п (%)										
Мужской	123	65,4	46	69,7	29	61,7	14	82,4	34	58,6
Женский	65	34,6	20	30,3	18	38,3	3	17,6	24	41,4
Морфологический вариант										
Классическая	177	94,1	60	90,9	45	95,7	17	100,0	55	94,8
Плеоморфная/бластоидная	11	5,9	6	9,1	2	4,3	0	0,0	3	5,2
Стадия исходно (Ann-Arbor)										
Стадия 1	6	3,2	2	3,0	1	2,1	0	0,0	3	5,2
Стадия 2	17	9,0	10	15,2	2	4,3	0	0,0	5	8,6
Стадия 3	46	24,5	15	22,7	8	17,0	5	29,4	18	31,0
Стадия 4	119	63,3	39	59,1	36	76,6	12	70,6	32	55,2
ЕСОГ, %										
0–1	172	91,5	66	100,0	43	91,5	17	100,0	46	79,3
≥2	16	8,5	0	0,0	4	8,5	0	0,0	12	20,7
ЛДГ										
Норма	91	48,4	32	48,5	26	55,3	8	47,1	25	43,1
2 нормы	24	12,8	8	12,1	8	17,0	4	23,5	4	6,9
3 нормы и более	4	2,1	2	3,0	1	2,1	0	0,0	1	1,7
Нет данных	69	36,7	24	36,4	12	25,5	5	29,4	28	48,3
Ki-67										
≤30%	121	64,4	35	53,0	35	74,5	11	64,7	40	69,0
>30%	67	35,6	31	47,0	12	25,5	6	35,3	18	31,0
АутоТГСК	9	4,8	4 ⁴	6,1	0 ⁵	0,0	5 ^{4,5}	29,4	0	0,0
Поддерживающий ритуксимаб	57	30,3	20	30,3	21	44,7	6	35,3	10	17,2

Примечания: 1 – p=0,0023; 2 – p=0,0042; 3 – p=0,0038; 4 – p=0,0057; 5 – p=0,0001.



винкристин, преднизолон), монотерапию ритуксимабом, оперативное лечение, R-Gemox (ритуксимаб, гемцитабин, оксалиплатин), монотерапию леналидомидом, бортезомибом, циклофосфаном, винкристином, преднизолоном. Поддерживающая терапия ритуксимабом определялась как монотерапия ритуксимабом ≥ 28 дней после первой линии индукционного лечения.

МИПИ был доступен только для 20% пациентов, однако ретроспективно был определен у всех пациентов. У 31 пациента (16,4%) МИПИ был высокий.

Индекс пролиферативной активности (по Ki-67), превышающий 30%, имели 67 пациентов (35,6%), у 11 (5,9%) был диагностирован бластоидный или плеоморфный цитоморфологический вариант. Большинство пациентов по оценке степени тяжести состояния в соответствии с версией ВОЗ/ECOG имели 0–1 балл.

С 2018 по 2023 г. у пациентов в возрасте младше 65 лет ($n=98$) использование различных схем терапии было неравномерным и изменялось с течением времени (рис. 3).

Использование RB выросло с 2% в 2018 г. до 50% в 2023 г. R-CHOP был самым часто применяемым режимом в 2018 г. (в 74% случаев), но его использование снизилось до 39% в 2023 г.

Необходимо отметить, что применение цитарабинсодержащих режимов началось в 2018 г. (9%) и незначительно возросло к 2023 г., достигнув 12%. Обращает на себя внимание большое количество непротокольных пациентов: в 2018 г. – около 20%, в 2020 и 2022 гг. – до 45%, хотя их процент к 2023 г. снизился практически до нуля.

9,2% (9/98) пациентов получили аутоТГСК. У 4 пациентов схемой индукции до аутоТГСК была R-CHOP, у 5 – цитарабинсодержащий режим (R-CHOP/R-DHAB).

30,3% (57/188) получили поддерживающую терапию ритуксимабом. Использование поддерживающей терапии ритуксимабом выросло с 14,3% в 2018 г. до 27,2% в 2022 г. у пациентов в возрасте младше 65 лет.

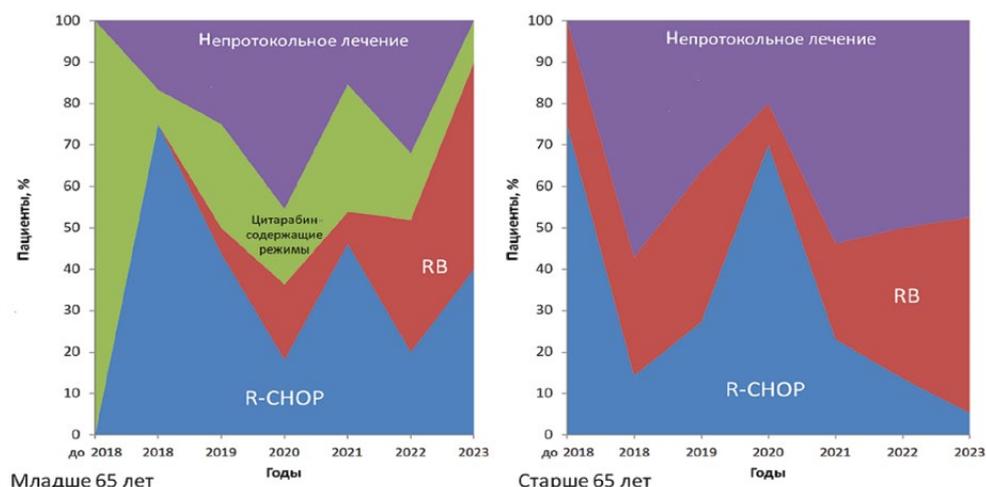


Рис. 3. Использование различных схем индукционной иммунохимиотерапии с 2018 по 2023 г.
Fig. 3. Use of various induction immunochemotherapy regimens from 2018 to 2023

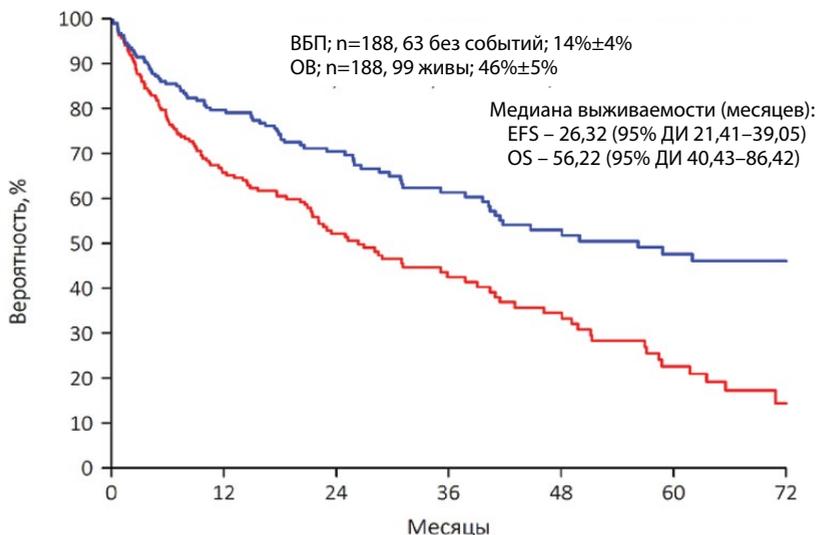


Рис. 4. Общая выживаемость и выживаемость без прогрессирования всей когорты пациентов
Fig. 4. Overall survival and progression-free survival of the entire cohort of patients

У пациентов в возрасте старше 65 лет (n=90) RB применяли в 45%, R-CHOP – менее чем в 10%, более половины пациентов отнесены к непротокольным (рис. 3). Общее использование R-CHOP снизилось с 15% в 2018 г. до 9,1% в 2023 г., тогда как использование RB выросло с 28% в 2018 г. до 45% в 2023 г.

Цитарабинсодержащие режимы, аутоТГСК у пациентов в возрасте старше 65 лет не применялись.

Медиана наблюдения составила 13,55 месяца (0,32–89,34).

ОВ и ВБП для всей группы пациентов в течение 6 лет составили 46±5% и 14±4% при медиане ОВ и ВБП 56,22 (95% ДИ 40,43–86,42) и 26,32 (95% ДИ 21,41–39,05) месяцев (рис. 4).

Пациенты в возрасте младше 65 лет имели лучшую выживаемость, чем пациенты старше 65 лет: медиана ВБП составила 28,09 месяца (95% ДИ 22,63–51,25) и 15,63 месяца (95% ДИ 9,08–31,09) соответственно (рис. 5).

Значительно дольше жили пациенты с ECOG-статусом <2, чем с ECOG-статусом ≥2, медиана ВБП 25,2 месяца (95% ДИ 21,28–37,76) и 2,37 месяца (95% ДИ 1,71–31,09) соответственно (рис. 6).

Не получено статистически значимых различий выживаемости в зависимости от цитоморфологического подтипа (плеоморфный/бластоидный против классического), уровня Ki-67 (≤30% против >30%) и лактатдегидрогеназы (норма против двух норм).

Вместе с тем медиана бессобытийной выживаемости значительно отличалась у пациентов с низким и промежуточным МИПИ и высоким МИПИ – 25,19 месяца (95% ДИ 21,41–37,76) и 8,68 месяца (95% ДИ 6,15–43,06) соответственно (рис. 7).

Пациенты, получавшие лечение по схемам R-CHOP (n=66), RB (n=47) и цитарабинсодержащим схемам (n=17), имели схожие медианы ВБП, составлявшие 26,94 месяца (95% ДИ 22,11–51,25), 24,93 (95% ДИ 17,63–72,0) и 26,94 месяца (95% ДИ 22,11–28,45)

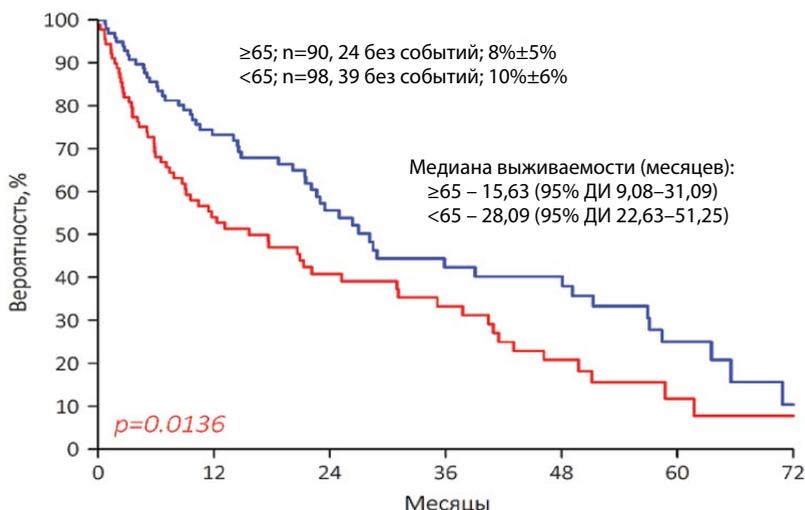


Рис. 5. Выживаемость без прогрессирования в зависимости от возраста
Fig. 5. Progression-free survival by age

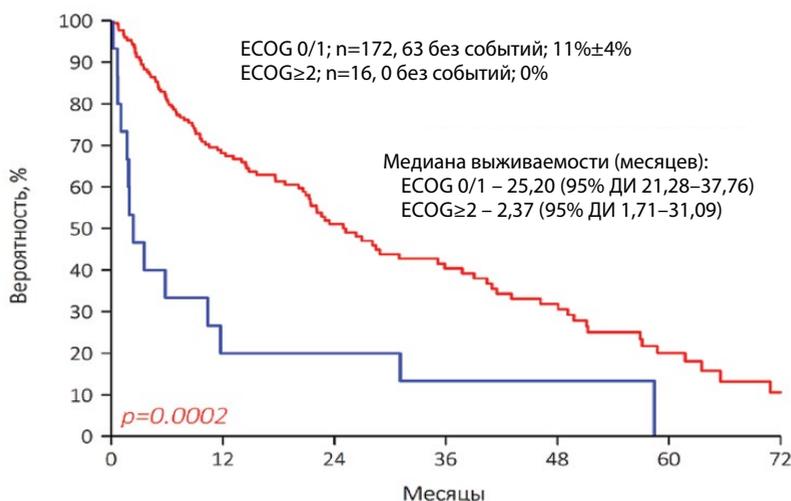


Рис. 6. Выживаемость без прогрессирования в зависимости от ECOG-статуса
Fig. 6. Progression-free survival depending on ECOG status

соответственно. 6-летняя ВБП составила $13\% \pm 6\%$ при R-CHOP, $12\% \pm 10\%$ при RB и 0% при режимах, содержащих цитарабин (рис. 8).

В группе пациентов непротокольного лечения медиана ВБП была значительно ниже – 7,37 месяца (95% ДИ 5,76–28,45, $p < 0,05$). Причем медианы ВБП пациентов в возрастных группах до и после 65 лет не различались.

Долговременное применение поддерживающей терапии ритуксимабом улучшило результаты при всех режимах химиотерапии (рис. 9). Медиана продолжительности поддерживающей терапии была 19,9 месяца.

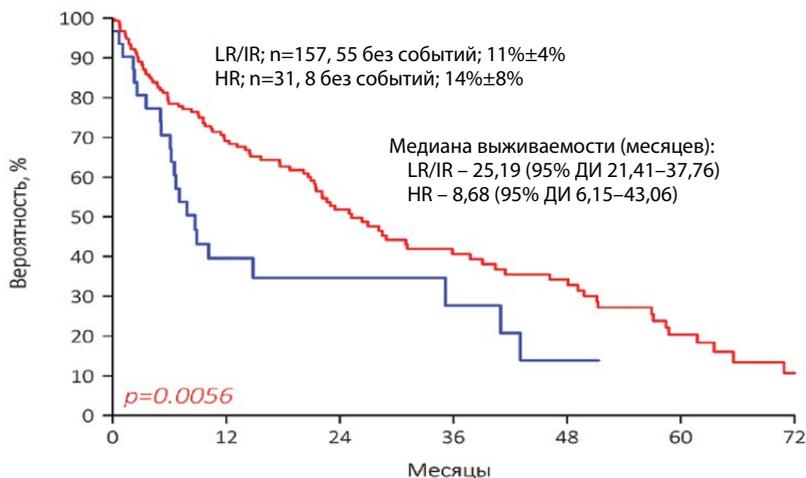
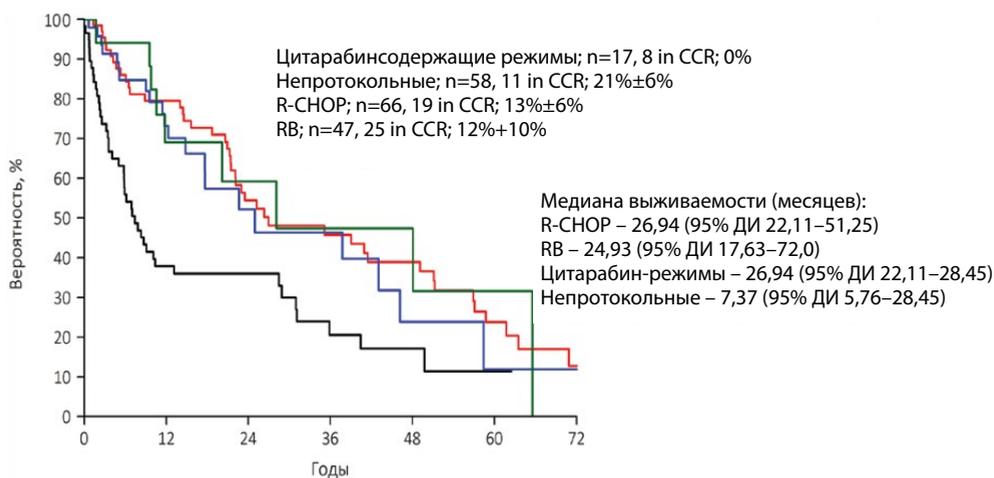


Рис. 7. Выживаемость без прогрессирования в зависимости от МИПИ
Fig. 7. Progression-free survival depending on MIPI



Непротокольные статистически значимо хуже всех остальных режимов $p<0,05$

Рис. 8. Выживаемость без прогрессирования в зависимости от режима терапии
Fig. 8. Progression-free survival depending on treatment regimen

Медиана ВБП при применении поддерживающей терапии ритуксимабом после RB значительно превышала медиану ВБП при применении RB без последующей поддерживающей терапии ритуксимабом: 48,06 месяца (95% ДИ 28,1–72,0) и 20,2 месяца (95% ДИ 10,5–72,0) соответственно. Медиана выживаемости после R-CHOP и поддерживающей терапии ритуксимабом vs R-CHOP без поддержки – 35,13 месяца (95% ДИ 26,94–72,0) и 23,49 месяца (95% ДИ 20,92–58,75) соответственно. При использовании цитарабинсодержащих режимов медиана выживаемости при поддержке

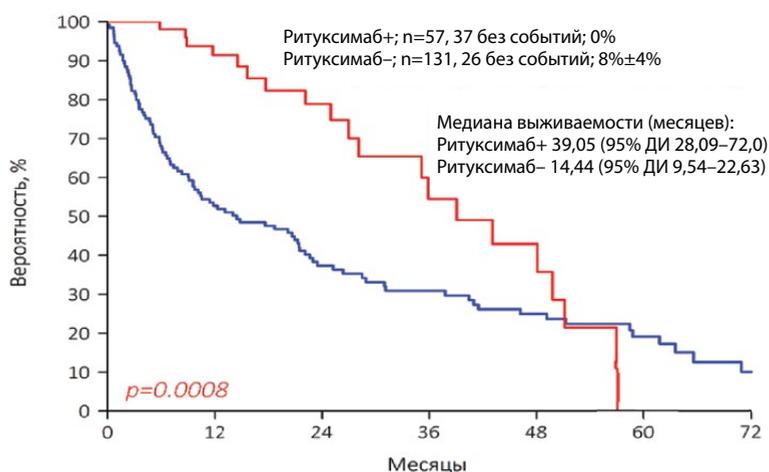


Рис. 9. Выживаемость без прогрессирования в зависимости от наличия поддерживающей терапии ритуксимабом
Fig. 9. Progression-free survival depending on the presence of rituximab maintenance therapy

ритуксимабом составила 48,06 месяца (95% ДИ 28,09–72,0) и без поддержки – 20,49 месяца (95% ДИ 10,53–72,0).

Регрессионный анализ Кокса показал, что отсутствие поддерживающей терапии ритуксимабом, возраст старше 65 лет, высокий риск МИПИ, ECOG≥2, а также непротокольное лечение были связаны со значительно более короткой выживаемостью (рис. 10).

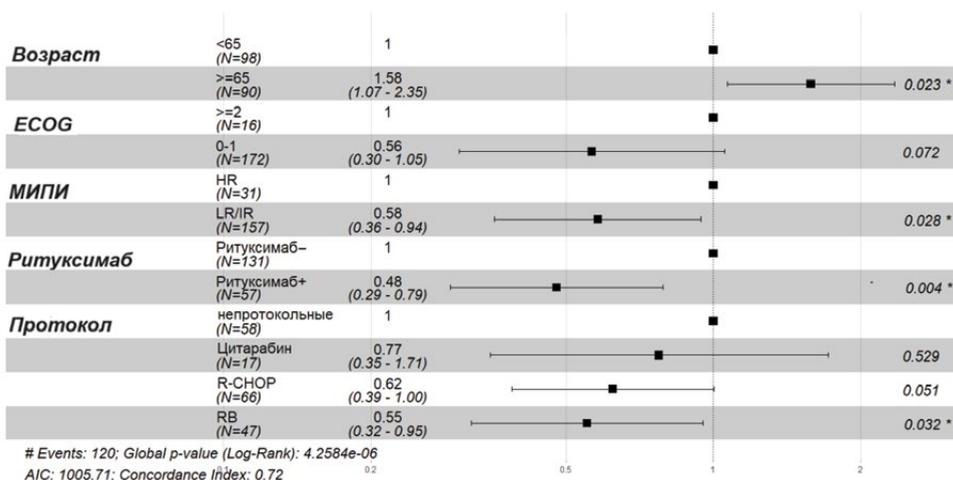


Рис. 10. Многофакторный анализ предикторов выживаемости в зависимости от возраста, ECOG-статуса, МИПИ, наличия поддерживающей терапии, ритуксимабом, режима терапии, * p<0,05, ** p<0,01

Fig. 10. Multivariate analysis of predictors of survival depending on age, ECOG status, MIPI, presence of maintenance therapy with rituximab, treatment regimen, * p<0.05, ** p<0.01

■ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время стандартным подходом к лечению классической МКЛ является агрессивная индукционная химиоиммуноterapia на основе цитарабина с последующей консолидацией аутоТГСК и поддерживающая терапия ритуксимабом у пациентов, являющихся кандидатами на трансплантацию [11–13]. Менее агрессивная индукционная терапия с последующей поддерживающей терапией ритуксимабом рекомендуется пациентам, не являющимся кандидатами на трансплантацию [14].

В нашей группе пациентов в возрасте до 65 лет режимы RB, R-CHOP применялись в 88% случаев. Цитарабинсодержащий режим применялся лишь в 12%. Его применение берет начало в 2018 г. и, по-видимому, связано с изданием в том году очередной версии клинического протокола «Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований». Однако частота применения режимов с содержанием цитарабина оставалась крайне низкой. Медиана ВБП в этой возрастной группе составляет 28,09 месяца (95% ДИ 22,63–51,25). При сравнении результатов лечения в зависимости от примененного режима медиана ВБП при применении цитарабинсодержащих режимов составляет 41,1 месяца, что превышает медианы ВБП при R-CHOP и RB, однако статистической достоверности не получено (табл. 2). Возможное объяснение связано с небольшой численностью группы пациентов, в лечении которых использовался цитарабин.

Обращает на себя внимание низкий процент использования высокодозной химиотерапии с аутоТГСК – 9,2% от всех пациентов в возрасте младше 65 лет. Четверо из них получили индукционный режим R-CHOP, из них живы двое. У 5 пациентов применен NORDIC-режим, четверо живы (один умер в ремиссии от острого нарушения мозгового кровообращения в отдаленный период после аутоТГСК). В ряде других исследований, проведенных в США, Канаде, Швеции, сообщалось о гораздо более высоких показателях использования аутоТГСК у молодых пациентов – около 60%. Различные тенденции использования аутоТГСК в нашей когорте и других исследованиях позволяют предположить, что на решение о проведении этой процедуры могут влиять различные причины, такие как сопутствующие заболевания, ограниченный ответ на индукционное лечение, предпочтения врача и пациента, а также наличие доступа к лечению [16–19].

Таблица 2
Медиана ВБП при применении различных режимов индукционной химиоиммунотерапии
Table 2
Median PFS with different induction chemoimmunotherapy regimens

Возраст	R-CHOP		RB		Цитарабинсодержащие режимы		Другие режимы	
	n	медиана	n	медиана	n	медиана	n	медиана
<65 лет	13	39,4 CI 95% 26,9–72,0	7	24,9 CI 95% 24,8–72,0	6	48,1 CI 95% 28,8–72,0	5	35,9 CI 95% 0–72,0
≥65 лет	7	35,2 CI 95% 22,1–72,0	14	43,1 CI 95% 17,7–72,0	–	–	5	29,2 CI 95% 5,8–72,0



RB был самым часто используемым режимом в первой линии лечения у пожилых пациентов, доля которого в структуре применяемых режимов увеличилась с 28% до 45% с 2018 по 2023 г. Это сопровождалось устойчивым сокращением использования R-СНОР с течением времени, что соотносится с опубликованными в 2013 г. результатами исследования, подтверждающими эффективность RB по сравнению с R-СНОР у пожилых пациентов [15]. Медиана ВБП у пациентов старше 65 лет составляет 15,63 месяца (95% ДИ 9,08–31,09).

Результаты лечения в нашей когорте оказались хуже, чем в других исследованиях, особенно у пациентов в возрасте до 65 лет (табл. 3).

При сопоставлении результатов лечения пациентов старшей возрастной группы также отмечалась более низкая эффективность лечения (табл. 4).

Интересно наблюдать увеличение частоты использования поддерживающей терапии ритуксимабом за 2018–2023 гг. с 22% до 48%, что совпадает с публикацией данных клинических испытаний III фазы, подтверждающих пользу ритуксимаба в качестве поддерживающей терапии [27].

Регрессионный анализ Кокса показал, что отсутствие поддерживающей терапии ритуксимабом, возраст старше 65 лет, высокий риск МИПИ, ECOG \geq 2, а также непротокольное лечение были связаны со значительно более короткой медианой выживаемости.

Таблица 3
Основные результаты лечения пациентов с МКЛ младше 65 лет
Table 3
Main results of treatment of patients with MCL less than 65 years of age

Исследование и протокол лечения	Число пациентов	Медиана наблюдения	Медиана ВБП	Медиана ОВ	Комментарии
1. LyMA-режим: Rituximab, Dexamethasone, Cytarabine (RDHA), and Platinum (carboplatin, cisplatin, or oxaliplatin) + аутоТГСК + Rmaint (поддерживающая терапия ритуксимабом vs наблюдение) [20, 21]	257	4,2 года	4-летняя ВБП 87% vs 65%	4-летняя ОВ 92% vs 76%	Оценивали роль поддерживающей терапии ритуксимабом и прогностическое влияние препаратов платины цис-, оксали-, карбо-
2. NORDIC-режим: R-maxi-СНОР/R+HD Cytarabine + аутоТГСК [22]	160	15 лет	9 лет	13 лет	У 145 пациентов, получивших аутоТГСК, медиана ОВ не достигнута, медиана ВБП 11 лет
3. Rituximab and Bendamustine/R+HD Cytarabine + аутоТГСК [23]	88	33 месяца	3-летняя ВБП 83%	3-летняя ОВ 92%	–
4. Rituximab + HyperCVAD/HD-Methotrexate and Cytarabine (без аутоТГСК) [24]	97	40 месяцев	3-летняя ВБП 78%	3-летняя ОВ 82%	При наблюдении 10 лет медиана ОВ не достигнута, медиана ВБП 5 лет
5. Исследуемая когорта (РБ)	98	13,5 месяца	Медиана 28,09 месяца; 4-летняя ВБП 39%	–	–

Таблица 4
Основные результаты лечения пациентов с МКЛ старше 65 лет
Table 4
Main results of treatment of patients with MCL over 65 years of age

Исследование и протокол лечения	Число пациентов	Медиана наблюдения	Медиана ВБП	Медиана ОВ	Комментарии
1. Stil: RB vs R-CHOP [25, 26]	46 vs 48	45 месяцев	35 месяцев vs 22 месяца	Не достигнута	RB-режим связан с меньшей гематологической и инфекционной токсичностью
2. BRIGHT: RB vs R-CHOP и RCVP [27]	224 vs 223	5 лет	5-летняя ВБП 66% vs 56%; p=0,0025	Разницы между группами не было	–
3. Леналидомид + ритуксимаб + поддерживающая терапия ритуксимабом [28]	38	64 месяца	3-летняя ВБП 80%; 5-летняя ВБП 64%	3-летняя ОВ 90%; 5-летняя ОВ 77%	–
4. RBAC500 (ритуксимаб, бендамустин и цитарабин) vs RB [29]	127	46 месяцев	2-летняя ВБП 87% для R-BAC и 64% для RB	121 месяц для R-BAC и 78 месяцев для RB	RBAC связан со значительно большей эффективностью p=0,01
5. Исследуемая когорта (РБ)	90	13,5 месяца	Медиана 15,63 месяца; 4-летняя ВБП 23%	–	–

Ценность нашего ретроспективного анализа заключается в охвате большого количества пациентов, что позволяет с высокой степенью достоверности характеризовать популяционные закономерности, а также сложившуюся практику лечения пациентов с МКЛ в онкологических учреждениях Республики Беларусь. Ограничения выполненного ретроспективного анализа включают отсутствие некоторых данных об исходных характеристиках пациентов, ответе опухоли, намерениях врача в начале индукционной терапии использовать аутоТГСК и поддерживающую терапию ритуксимабом.

Таким образом, на основании опубликованных результатов исследований при более чем 40% вероятности продолжающейся ремиссии в течение 10 лет, выравнивании кумулятивной частоты неудач лечения через 8 лет и приемлемом уровне токсичности некоторые пациенты с МКЛ могут быть излечены. На базе этих превосходных долгосрочных результатов схемы лечения с использованием высоких доз цитарабина должны оставаться стандартом лечения более молодых пациентов. Тем не менее ретроспективный анализ показал, что RB с аутоТГСК и поддержкой ритуксимабом является осуществимым и эффективным лечением первой линии с результатами, сравнимыми с R-CHOP/R-DHAB с аутоТГСК. Интересно, что ретроспективный анализ исследования Flatiron Health показал, что поддерживающая терапия



ритуксимабом после RB без выполнения аутоТГСК может дать аналогичный результат [29]. Многие исследования направлены на улучшение результатов за счет включения новых препаратов, таких как ингибиторы тирозинкиназы Bruton (ингибиторы ВТК), в схемы первой линии.

Текущие рандомизированные исследования, такие как European MCL Network Triangle (ClinicalTrials.gov identifier: NCT02858258) и E4151 (ClinicalTrials.gov identifier: NCT03267433), призваны ответить на этот вопрос. У пациентов, рефрактерных к схемам с цитарабином или RB, необходимо исследовать новые бесхимиотерапевтические подходы, такие как CAR-T-клетки и биспецифические антитела.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом наши результаты дают дополнительные сведения для планирования будущих исследований оценки новых схем лечения МКЛ. Исследование инновационных лекарственных средств (ингибиторы ВТК, леналидомид, венетоклакс) с уникальным механизмом действия должно расширить варианты лечения этого заболевания, возможно, освобождая часть пациентов от традиционной химиотерапии.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Teras LR, DeSantis CE, Cerhan JR, et al. US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes. *CA Cancer J Clin.* 2016;66:443–459. doi: 10.3322/caac.21357
2. Armitage JO, Longo DL. Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2022;386:2495–2506. doi: 10.1056/NEJMra2202672
3. Sant M, Allemani C, Tereanu C, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood.* 2010;116:3724–3734. doi: 10.1182/blood-2011-02-335794
4. Dreyling M, Campo E, Hermine O, et al. Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2017;28(Suppl. 4):iv62–iv71. doi: 10.1093/annonc/mdx223
5. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. *Leukemia.* 2022;36(7):1720–1748. doi: 10.1038/s41375-022-01620-2
6. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The international consensus classification of mature lymphoid neoplasms: a report from the clinical advisory committee. *Blood.* 2022;140(11):1229–1253. doi: 10.1182/blood.2022015851
7. Hoster E, Rosenwald A, Berger F, et al. Prognostic value of Ki-67 index, cytology, and growth pattern in mantle-cell lymphoma: results from randomized trial of the European mantle cell lymphoma network. *J Clin Oncol.* 2016;34(12):1386–1394. doi: 10.1200/JCO.2015.63.8387
8. McKay P, Leach M, Jackson B, et al. Guideline for the management of mantle cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2018;182(1):46–62. doi: 10.1111/bjh.15283
9. National Comprehensive Cancer Network: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) B-Cell Lymphomas/Mantle Cell Lymphoma. Version 3.2023, April 25, 2022. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/b-cell.pdf
10. Rummel M, Knauf W, Goerner M, et al. Two years rituximab maintenance vs. observation after first-line treatment with bendamustine plus rituximab (B-R) in patients with mantle cell lymphoma: First results of a prospective, randomized, multicenter phase II study (a subgroup study of the StiL NHL7-2008 MAINTAIN trial). *J Clin Oncol.* 2016;34(Suppl. 15):7503–7503. doi: 10.1200/jco.2016.34.15 suppl.7503
11. Graf SA, Stevenson PA, Holmberg LA, et al. Maintenance rituximab after autologous stem cell transplantation in patients with mantle cell lymphoma. *Ann Oncol.* 2015;26:2323–2328. doi: 10.1093/annonc/mdv364
12. Le Gouill S, Thiebtemont C, Oberic L, et al. Rituximab after autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2017;377:1250–1260. doi: 10.1056/NEJMoa1701769
13. Klener P, Salek D, Pytlík R, et al. Rituximab maintenance significantly prolongs progression-free survival of patients with newly diagnosed mantle cell lymphoma treated with the Nordic MCL2 protocol and autologous stem cell transplantation. *Am J Hematol.* 2019;94:E50–E53. doi: 10.1002/ajh.25362
14. Kluijn-Nelemans HC, Hoster E, Hermine O, et al. Treatment of older patients with mantle cell lymphoma (MCL): Long-term follow-up of the randomized European MCL Elderly Trial. *J Clin Oncol.* 2020;38:248–256. doi: 10.1200/JCO.19.01294
15. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G, et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: An open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet.* 2013;381:1203–1210. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61763-2
16. Sawalha Y, Radivoyevitch T, Jia X, et al. The impact of socioeconomic disparities on the use of upfront autologous stem cell transplantation for mantle cell lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2022;63:335–343. doi: 10.1080/10428194.2021.1978085
17. Gerson JN, Handorf E, Villa D, et al. Survival outcomes of younger patients with mantle cell lymphoma treated in the rituximab era. *J Clin Oncol.* 2019;37:471–480. doi: 10.1200/JCO.18.00690
18. Villa D, Sehn LH, Savage KJ, et al. Bendamustine and rituximab as induction therapy in both transplant-eligible and -ineligible patients with mantle cell lymphoma. *Blood Adv.* 2020;4:3486–3494. doi: 10.1182/bloodadvances.2020002068

19. Glimelius I, Smedby KE, Albertsson-Lindblad A, et al. Unmarried or less-educated patients with mantle cell lymphoma are less likely to undergo a transplant, leading to lower survival. *Blood Adv.* 2021;5:1638–1647. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003645
20. Le Gouill S, Thieblemont C, Oberic L, et al. Rituximab after autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2017;377:1250–1260. doi: 10.1056/NEJMoa1701769
21. Tessoulin B, Chiron D, Thieblemont C, et al. Oxaliplatin before autologous transplantation in combination with high-dose cytarabine and rituximab provides longer disease control than cisplatin or carboplatin in patients with mantle-cell lymphoma: results from the LyMA prospective trial. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56(7):1700–1709. doi: 10.1038/s41409-020-01198-2
22. Eskelund CW, Kolstad A, Jerkeman M, et al. 15-year follow-up of the second Nordic mantle cell lymphoma trial (MCL2): prolonged remissions without survival plateau. *Br J Haematol.* 2016;175(3):410–418. doi: 10.1111/bjh.14241
23. Merryman RW, Edwin N, Redd R, et al. Rituximab/bendamustine and rituximab/cytarabine induction therapy for transplant-eligible mantle cell lymphoma. *Blood Adv.* 2020;4:858–867. doi: 10.1182/bloodadvances.2019001355
24. Bernstein SH, Epner E, Unger JM, et al. A phase II multicenter trial of hyper CVAD MTX/Ara-C and rituximab in patients with previously untreated mantle cell lymphoma; SWOG 0213. *Ann Oncol.* 2013;24:1587–1593. doi: 10.1093/annonc/mdt070
25. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G, et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet.* 2013;381:1203–1210. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61763-2
26. Flinn IW, van der Jagt R, Kahl B, et al. First-line treatment of patients with indolent non-hodgkin lymphoma or mantle-cell lymphoma with bendamustine plus rituximab versus R-CHOP or R-CVP: Results of the BRIGHT 5-year follow-up study. *J Clin Oncol.* 2019;37:984–991. doi: 10.1200/JCO.18.00605
27. Le Gouill S, Thieblemont C, Oberic L, et al. Rituximab after autologous stem-cell transplantation in mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2017;377:1250–1260. doi: 10.1056/NEJMoa1701769
28. Ruan J, Martin P, Christos P, et al. Five-year follow-up of lenalidomide plus rituximab as initial treatment for mantle cell lymphoma. *Blood.* 2018;132:2016–2025. doi: 10.1182/blood-2018-07-859769
29. Martin P, Cohen J, Wang M, et al. Treatment Outcomes and Roles of Transplantation and Maintenance Rituximab in Patients With Previously Untreated Mantle Results From Large Real-World Cohorts. *J Clin Oncol.* 2022;41(3):541–554. doi: 10.1200/JCO.21.02698



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.4.005>
УДК 15.38. (091) (470.44)



Гольдинберг Б.М.✉, Дикая Т.В.

б-я городская клиническая больница, Минск, Беларусь

Исторические аспекты открытия и изучения полиморфизма антигена RhD серологическими и молекулярно-генетическими методами

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – все авторы; сбор и обработка материала – Дикая Т.В.; анализ и интерпретация данных – все авторы; подготовка рукописи – все авторы; окончательное одобрение рукописи – Гольдинберг Б.М.

Подана: 17.06.2024

Принята: 20.08.2024

Контакты: bgkb-trfz@mcct.by

Резюме

Введение. Одним из наиболее иммуногенных антигенов является RhD, что имеет существенное значение в трансфузиологии и акушерстве. Серологическое отличие между RhD-положительными и RhD-отрицательными эритроцитами не всегда однозначно из-за различной степени экспрессии антигена на эритроцитах, проявляющейся его полиморфизмом. На сегодняшний день известно более 700 аллелей гена RHD, и их число постоянно растет благодаря внедрению новых иммуногематологических методов, в том числе молекулярно-генетических. Неоднозначно и само наименование системы Rh с исторической точки зрения.

Цель. Осуществить исторический обзор и систематизировать периоды открытия антигена RhD, отобразить выявление его полиморфизма благодаря прогрессу в сфере иммуногематологической диагностики.

Результаты. В 1940 г. K. Landsteiner, A.S. Wiener обнаружили новую систему антигенов эритроцитов Rh-Hr. Однако через много лет было установлено, что фактор, найденный у макаки-резус, отличается по строению от Rh-фактора человека, который открыли K. Landsteiner и A.S. Wiener. Сохранившийся образец сыворотки женщины по имени Mary Seno в 1962 г. был исследован R.E. Rosenfield, H.H. Allen et al., которые нашли в нем активные анти-D-антитела класса IgG. Ошибочное наименование самой системы Rh, не имеющей отношения к обезьянам, решили не менять, но обозначать как Rh и произносить как «эр эйч».

Авторы систематизировали данные научных публикаций с 1940 г. по настоящее время и впервые провели их периодизацию. В основу хронологии положены применяемые методы лабораторного исследования полиморфизма антигена RhD, диагностические тесты на аллосенсибилизацию, а также проведение ее специфической профилактики.

Выводы:

1. В хронологии изучения системы Rh и ее антигена RhD можно выделить три периода: а) открытия системы антигенов эритроцитов Rh-Hr с применением сывороток, изготовленных кустарными методами (1940–1960); б) совершенствования способов массового получения сыворотки антирезус и серологических методов

определения антигена RhD (1961–1991); в) изучения полиморфизма RhD с применением стандартизированных моноклональных реагентов и молекулярно-генетических методов (с 1992 г. по настоящее время).

2. Результаты многочисленных исследований доказывают значительное разнообразие вариантов антигенов RhD и RhCE. Определены оптимальные серологические методы для выявления полиморфизма антигенов системы, однако их возможности ограничены.
3. Внедрение в практику иммуногематологических лабораторий методов молекулярно-генетического типирования гена RHD должно способствовать персонализации трансфузионной терапии компонентами крови, повышению безопасности гемотрансфузий и улучшению профилактики аллоиммунизации реципиентов и беременных женщин, а также обеспечить диагностику RhD плода неинвазивным методом по крови RhD-отрицательной матери.

Ключевые слова: антиген RhD, полиморфизм, лабораторный метод, тест, период

Gol'dinberg B.✉, Dzikaya T.
6th City Clinical Hospital, Minsk, Belarus

Historical Aspects of the Discovery and Study of the Polymorphism of the RhD Antigen by Serological and Molecular Genetic Methods

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: the concept and design of the study – all authors; collection and processing of material – Dzikaya T.; the analysis and the interpretation of the data – all authors; the preparation of the manuscript – all authors; the final approval of the manuscript – Gol'dinberg B.

Submitted: 17.06.2024

Accepted: 20.08.2024

Contacts: 6gkb-trfz@mcct.by

Abstract

Introduction. One of the most immunogenic antigens is RhD that is essential in transfusiology and obstetrics. The serological difference between RhD-positive and RhD-negative erythrocytes is not always unambiguous due to the varying degree of antigen expression on erythrocytes manifested by its polymorphism. Nowadays more than 400 alleles of the RHD gene are known and their number is constantly growing due to the introduction of new immunohematological methods including molecular genetic ones. The very name of the Rh system is ambiguous from a historical point of view.

Purpose. To conduct a historical review and systematize the periods of discovery of the RhD antigen, to display the identification of its polymorphism due to progress in the field of immunohematological diagnostics.

Results. In 1940, K. Landsteiner and A.S. Wiener discovered a new system of Rh-Hr erythrocyte antigens. However, many years later it was determined that the factor found in the Macaque-Rhesus differs in its structure from the human Rh factor discovered by K. Landsteiner, A.S. Wiener. The preserved serum sample of this woman was examined



in 1962 by R.E. Rosenfield, H.H. Allen et al. who found active anti-D antibodies of the IgG class in it. The incorrect name of the Rh system itself which has nothing to do with monkeys was decided not to change but to denote and pronounce it as Rh.

The authors have systematized the data of the scientific publications since 1940 to the present and carried out their periodization for the first time in the literature. The chronology is based on the applied methods of laboratory investigation of RhD antigen polymorphism, diagnostic tests for allosensitization, as well as its specific prevention.

Conclusion:

1. The chronology of the study of the Rh system and its RhD antigen can be presented by three periods: a) discovery of the Rh-Hr erythrocyte antigen system with the use of serums made by artisanal methods (1940–1960); b) improvement methods for mass production of anti-rhesus serum and serological methods for determining antigen RhD (1961–1991); c) studying RhD polymorphism applying standardized monoclonal reagents and molecular genetic methods (since 1992 to the present).
2. The results of numerous studies prove a significant variety of variants of RhD and RhCE antigens. Optimal serological methods for detecting polymorphism of the antigens of the system have been determined but their possibilities are limited.
3. Putting the methods of molecular genetic typing of the RHD gene into the practice of immunohematology laboratories should contribute to the personalization of transfusion therapy with blood components and increase the safety of blood transfusions, ensure the prevention of alloimmunization of recipients and pregnant women as well as ensure the diagnosis of fetal RhD by a non-invasive method based on the blood of a RhD-negative mother.

Keywords: RhD antigen, polymorphism, laboratory method, test, period

■ ВВЕДЕНИЕ

Антигены эритроцитов человека являются структурными образованиями, расположенными на внешней поверхности мембраны эритроцитов и обладающими способностью взаимодействовать с соответствующими антителами, а также образовывать комплекс из антигена и антитела. Антигены эритроцитов наследуются от родителей.

Одним из наиболее иммуногенных антигенов является RhD, что имеет существенное значение в трансфузиологии и акушерстве. Антиген определяется как RhD-положительный или RhD-отрицательный на основании его присутствия или отсутствия на поверхности эритроцитов. Однако серологическое отличие между RhD-положительными и RhD-отрицательными эритроцитами не всегда однозначно из-за различной степени экспрессии антигена на эритроцитах и характеристик анти-D сыворотки, используемой для типирования эритроцитов. Двусмысленное определение RhD может быть сложной задачей для беременных женщин, реципиентов и доноров.

Кроме того, экспрессия и распространение Rh-антигенов могут зависеть от этнической принадлежности, а постоянно растущее количество новых аллелей представляет собой проблему в трансфузионной медицине и акушерстве. На сегодняшний

день известно более 700 аллелей гена RHD. Они открываются путем внедрения новых иммуногематологических методов, в том числе молекулярно-генетических.

Неоднозначно и само наименование системы Rh с исторической точки зрения.

Систематизацию материалов об открытии полиморфизма антигена RhD в доступных литературных источниках мы не нашли.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Осуществить исторический обзор и систематизировать периоды открытия антигена RhD, отобразить выявление его полиморфизма благодаря прогрессу в сфере иммуногематологической диагностики.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала использованы научные публикации о системе Rh с целевым отбором сведений по антигену D, включая опубликованные ранее собственные работы. Изучив научные публикации о системе Rh, мы отобрали сведения по антигену D и составили его описания в хронологическом порядке.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Период открытия системы антигенов эритроцитов Rh-Hr

В 1939 г. P. Levine (уроженец белорусского города Клецка, эмигрировавший в 1908 г. с родителями в США) [23] и E.R. Stetson опубликовали доклад об обнаружении ими в сыворотке крови женщины по имени Mary Seno антител после ее родоразрешения мертвым плодом. Они сделали правильный вывод: в течение беременности организм матери был иммунизирован каким-то антигеном плода, унаследованным им от отца [44].

Под руководством К. Landsteiner один из наиболее талантливых его учеников A.S. Wiener в 1940 г. обнаружил новую систему антигенов эритроцитов Rh-Hr. A.S. Wiener обратил внимание, что сыворотки морских свинок и кроликов после иммунизации эритроцитами обезьян макак-резус агглютинируют не только эритроциты макак, но и эритроциты людей. Эритроциты, содержащие резус-фактор, были обозначены как резус-положительные (Rh+), а не содержащие его – как резус-отрицательные (Rh- или Hr). Большинство исследователей считали, что гетероиммунные антитела, полученные К. Landsteiner, A.S. Wiener, имеют такую же специфичность, что и антитела, обнаруженные P. Levine, E.R. Stetson в сыворотке крови женщины, т.е. они могут обусловить посттрансфузионные осложнения и гемолитическую болезнь новорожденного [44].

Однако через много лет было установлено, что фактор, найденный у макаки-резус, отличается по строению от Rh-фактора человека, который открыли К. Landsteiner, A.S. Wiener. Сохранившийся образец сыворотки той женщины в 1962 г. был исследован R.E. Rosenfield, H.H. Allen et al., которые нашли в нем активные анти-D-антитела класса IgG [14]. Справедливости ради, в 1963 г. фактор, обнаруженный у макаки-резус, в честь его первооткрывателей был назван фактором Ландштейнера – Винера (он выделен у человека в отдельную эритроцитарную систему O16 – LW). Антигены системы LW не имеют ничего общего с антигеном D системы Rh и присущи эритроцитам как человека, так и обезьян.



Ошибочное наименование самой системы Rh, не имеющей отношения к обезьянам, решили не менять, но обозначать как Rh и произносить как «эр эйч». По выражению P. Levine, само наименование «система резус» представляет собой не что иное, как *misnomer*, т.е. «неправильное употребление термина» [44].

Открытие Rh-фактора стало крупным достижением в иммуногематологии, сопоставимым по значимости для медицины и биологии с открытием групп крови по системе ABO. A.S. Wiener, H.R. Peters (1940) показали возможность выработки иммунных антител анти-Rh у человека.

Порядок наследования Rh-фактора был установлен К. Landsteiner, A.S. Wiener (1941) благодаря результатам семейных обследований 60 супружеских пар и 237 их детей [44].

В 1938 г. R.R. Darrow высказал предположение об иммунной этиологии гемолиза эритроцитов плода при конфликте по системе ABO. По его мнению, эритроциты плода проникают в кровоток матери, где образуются антитела на чужеродный антиген, а затем трансплацентарно антитела переходят в кровоток плода и разрушают его эритроциты [9]. Открытие RhD-антигена способствовало точному описанию патофизиологических механизмов эритроblastоза у плода, которое в 1941 г. дали P. Levine, E.M. Katzin, L. Burnham. Они впервые предложили механизм развития гемолитической болезни новорожденного (фетального эритроblastоза) по системе Rh. По мнению авторов, Rh-отрицательная женщина, беременная плодом, который унаследовал от своего биологического отца RhD-фактор, вырабатывает на этот чужеродный ей антиген соответствующие антитела. Циркулирующие в ее крови анти-Rh антитела через плаценту переходят к плоду в конце беременности и во время родов. Такое блестящее предположение было доказано L.H. Rasch (1949) на большом фактическом материале тяжелых патологических осложнений у плодов и новорожденных вплоть до их гибели при изосенсибилизированной беременности по системе Rh [44].

Период совершенствования способов массового получения сыворотки антирезус и методов определения антигена RhD

В 1940–1960 гг. предлагались и совершенствовались способы получения сыворотки антирезус и методы определения антигена RhD [3, 7, 27, 33, 34, 36, 39, 42, 46, 56, 63, 70].

Н.И. Блинов один из первых в СССР предложил технику приготовления стандартов для определения фактора Rh [10]. Сыворотку антирезус получали из следующих источников: 1) от беременных женщин при титре у них RhD-антител не ниже 1:16 в объеме до 200 мл 2 раза в месяц до 8-го месяца беременности; 2) из ретроплацентарной крови при условии ее хранения до 20 часов в комнатном холодильнике для отделения сыворотки; 3) от реципиентов во время заменного переливания крови (бутылки с выпущенной кровью в объеме 500–600 мл в течение 20 часов хранились в комнатном холодильнике, после чего сыворотка сливалась и консервировалась); 4) от изоиммунных доноров, которым предварительно с целью иммунизации с интервалом в 4 дня проводили 5 внутривенных введений донорской крови с RhD-положительным антигеном и через 4 месяца повторяли цикл иммунизации – 3 внутривенные инъекции по 5 мл с теми же интервалами – 4 дня [49].

В 1945 г. R.R.A. Coombs, A.E. Mourant, R.R. Race предложили антиглобулиновый тест, который до сих пор не утратил своей значимости и остается наилучшим методом индивидуального подбора донорских эритроцитов [12]. Реактив получают путем инъекции глобулина человека животным, которые продуцируют поликлональные антитела, специфичные к иммуноглобулинам человека и факторам системы комплемента человека. Можно использовать более специфические реагенты Кумбса или моноклональные антитела. Суть данного метода заключается в том, что антиглобулиновая сыворотка, содержащая антитела к иммуноглобулинам человека, при реакции с эритроцитами, сенсibilизированными неполными антителами, приводит к их агглютинации. В зависимости от того, фиксированы ли антитела на поверхности эритроцитов или находятся в свободном состоянии в плазме крови, применяется прямая или непрямая проба Кумбса.

В СССР клиническое изучение антигена D системы Rh и его роли в патогенезе посттрансфузионных осложнений и этиологии гемолитической болезни новорожденного началось в 1950-х гг. [38, 56, 62, 64, 65].

Свой вклад в разработку тестирования антигена RhD внесли и белорусские ученые Т.С. Барташевич, Р.М. Пузевская, Л.В. Иванов, В.И. Левин, А.А. Ракитянская, С.С. Харамоненко [6, 24, 25, 29–31, 45, 47].

В 1950-х гг. был разработан тест на определение фетального гемоглобина в кровотоке матери (тест Kleinchauer-Betke, 1957), свидетельствующий о фето-материнском кровотечении, которое и приводит к началу заболевания [22, 32, 59].

Ученые Великобритании и США установили, что антирезус-иммуноглобулин, введенный Rh-отрицательным женщинам в послеродовом периоде, снижает вероятность развития последующей иммунизации [15], а исследователи из Германии уточнили, что при уже имеющейся сенсibilизации антирезус-иммуноглобулин не эффективен [11, 18, 53].

В 1968 г. американские исследователи получили разрешение на использование антирезус-гамма-глобулина. С тех пор за рубежом он широко применяется как для послеродовой, так и для антенатальной профилактики. В нашей стране антирезус-иммуноглобулин был внедрен в практику благодаря работам В.М. Сидельниковой и ее учеников [2, 8, 22, 51, 55].

В 1956 г. Минздравом СССР была утверждена инструкция по определению резус-принадлежности крови у пациентов, доноров и других лиц (в 1965 г. была пересмотрена). Для этих целей применялись методы конглютинации с использованием желатина в пробирках и сывороточной среде на чашках Петри; в солевой среде в маленьких пробирках; экспресс-методы при комнатной температуре на плоскости, приготовленной на альбумине или полиглюкине [24].

В 1960 г. в СССР начали открываться резус-лаборатории в учреждениях родо-вспоможения как с диагностической целью, так и для заготовки сырья из венозной и ретроплацентарной крови от аллосенсibilизированных женщин. С 1960 г. переливание крови в стране стали проводить с учетом совместимости по антигену RhD [24].

С 1968 г. начали ставить отметку в паспортах и других документах, удостоверяющих личность граждан СССР, о группе и резус-принадлежности крови. Приказом министра здравоохранения СССР от 15 января 1970 г. было утверждено положение о станции переливания крови, в структуре которой как самостоятельное подразделение была выделена резус-лаборатория [24].



Период изучения полиморфизма RhD с применением стандартизированных моноклональных реагентов и молекулярно-генетических методов

Уже к 1943 г. стало известно, что система Rh является сложной по составу. A.S. Wiener с помощью 5 основных антисывороток (анти-D, анти-C, анти-E, анти-c и анти-e) установил 5 различных антигенных факторов этой системы. Сегодня система Rh является одной из наиболее полиморфных групповых систем крови, насчитывающей 59 антигенов и свыше 400 аллелей.

Среди европейцев RhD-отрицательным антигеном обладают 15–17% людей, в Южной Африке – 5%, в Японии, Китае, Монголии и Корее – 3%. Напротив, у басков лишь 34% D-положительных лиц. В Барановичском районе Беларуси частота встречаемости RhD-отрицательного антигена среди первичных доноров крови составляет 20,44% [26].

Отметим, что у европеоидов основной причиной D-отрицательности является делеция гена RHD, в то время как у негроидов и монголоидов часто выявляется неактивный (молчащий) ген RHD или гибридный ген RHD-CE-D, не экспрессирующий антиген D. 20% D-отрицательных японцев имеют резус-фенотип DEL, характеризующийся очень низким уровнем экспрессии антигена D [61].

Первым о существовании слабых вариантов антигена D, обозначенных как Du, сообщил F. Stratton в 1946 г. [58] Термином Du называли антиген D на тех эритроцитах, которые не агглютинировались анти-D-антителами класса IgM, но давали положительный результат с анти-D-антителами класса IgG в непрямом антиглобулиновом тесте. Чистых анти-Du-антител не выделено: у D-отрицательных пациентов после переливания им эритроцитов с антигеном Du вырабатывались антитела со специфичностью анти-D, что доказывало существование только количественных различий между антигенами D и Du. Поэтому в 1992 г. антиген Du переименовали в антиген D weak [1].

Прорыв в понимании молекулярных основ системы Rh произошел в начале 1990-х гг., когда были клонированы гены локуса RH – ген RHD и ген RHCE. Так, B.Y. Colin et al. (1991) выяснили, что RhD-положительные лица имеют два гена – RHD и RHCE, кодирующие выработку Rh-антигенов, а RhD-отрицательные имеют один ген RHCE. На основании этого открытия P. Tippet et al. (1996) выдвинули концепцию отличия строения RhD-положительного и RhD-отрицательного антигенов (рис. 1).

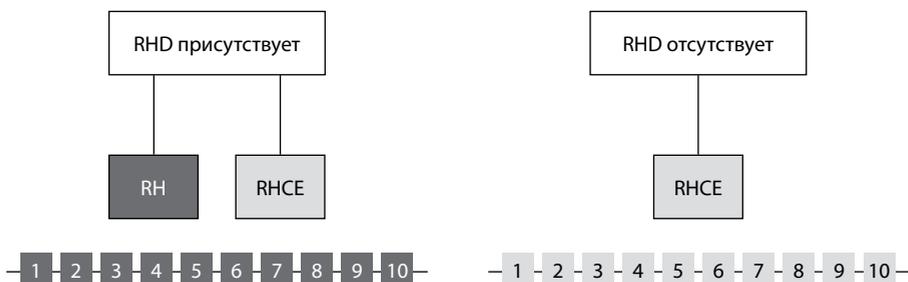


Рис. 1. Схематичное изображение RHD-положительного и RHD-отрицательного генов
Fig. 1. Schematic image of RHD-positive and RHD-negative genes

Классический, или дикий, антиген RhD имеет сложное строение из 37 частей (эпитопов) [52].

Протеин RhD (как и протеин RhCE) – это молекула, 12 раз пересекающая мембрану эритроцитов в направлении от внутренней поверхности к наружной и затем вновь ко внутренней с С- и N-концами, ориентированными к цитоплазме (рис. 2). В мембране одного эритроцита содержится от 10 до 30 тыс. молекул ключевых Rh-антигенов.

F.F. Wagner et al. представили доказательства взаимосвязи между смысловыми мутациями в гене RHD и снижением экспрессии антигена RhD вследствие нарушения интеграции резусного белка в мембрану эритроцитов [67]. Количество встраиваемых в мембрану эритроцита молекул белка RhD зависит от локализации аминокислотных замен в нем: чем ближе к внутриклеточной части молекулы белка RhD происходят аминокислотные замены, тем больше антигенных детерминант формируется на самой мембране и тем легче выявлять их серологическими методами.

В зависимости от количества антигенных детерминант и эпитопов принято выделять, кроме классического, еще 3 основных варианта антигена RhD: слабый антиген RhD – RhD weak (количество антигенных детерминант на эритроците меньше по сравнению с классическим антигеном, возможна выработка анти-D-антител) [1], парциальный антиген RhD – RhD partial, у которого отсутствует какой-либо из эпитопов (лица с таким антигеном D могут вырабатывать антитела к отсутствующим у них эпитопам) [60], и антиген RhDEL [13, 35]. Эритроциты с антигеном RhDEL при использовании серологических методов обычно идентифицируют как RhD-отрицательные; его выявляют, как правило, с помощью методов адсорбции – элюции [54]. У носителей этого антигена возможен синтез анти-D-антител.

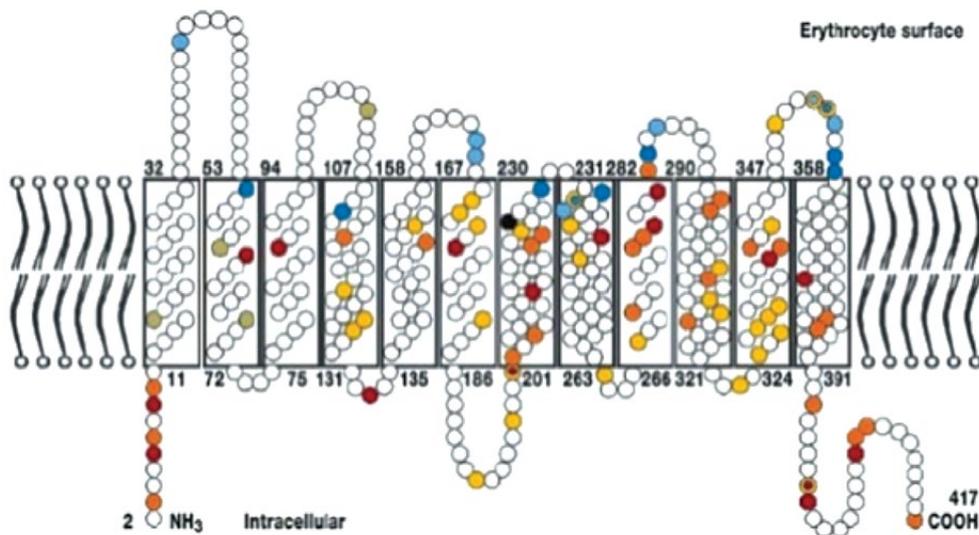


Рис. 2. Модель протеина RhD на эритроците (по M. Conroy et al., 2005)

Fig. 2. A model of the RhD protein on a red blood cell (according to M. Conroy et al., 2005)



Появление новых фенотипов RhD – D weak – обусловлено изменениями нуклеотидных последовательностей или в самом гене RHD, или в его ближайшем окружении. Мутационные процессы чаще происходят в виде замены единичных нуклеотидов и возникают в экзонах (смысловые мутации), что приводит к единичным или множественным заменам аминокислот во внутриклеточной или трансмембранной части белка RhD [4, 68].

К настоящему времени описан 161 тип антигена RhD weak, которые обозначают как RhD weak type 1 ... 161 или по нуклеотидным заменам в гене [21].

Антиген RhD partial отличается от классического антигена RhD качественными изменениями в структуре антигена – эпитопах (рис. 3).

Мутация объясняется возможным во время мейоза обменом ДНК между генами RHD и RHCE, расположенными на одной хромосоме. В результате в гибридном гене RHD утраченная часть замещается CE-пептидной последовательностью. Наиболее часто встречается фенотип DVI антигена RhD partial (0,01–0,1% у европеоидов и 1,0–1,7% у негроидов) [60]. В Беларуси частота его встречаемости не изучена.

В последнее время RhD weak и RhD partial обозначаются общим термином «вариантные антигены». Термин Du в литературе больше не используется [40].

В 1989 г. для проведения иммуногематологических исследований Y. Lapierre была предложена гелевая технология (называется также колоночной), основанная на реакции агглютинации эритроцитов в агаровом геле «сефадекс», помещенных в микропробирки. Она позволила стандартизировать реакции гемагглютинации и получать достоверные результаты исследования [40, 66].

Для проведения тестов могут применяться три вида геля: 1) нейтральный, не содержащий специфических антител (применяется для поиска и идентификации антител солевым и ферментативным методами, в холодной стадии пробы на совместимость крови донора и реципиента); 2) специфический, содержащий антитела (монокли или поликлональные) к антигенам эритроцитов крови человека (применяется для типирования антигенов эритроцитов систем ABO, Rh, Kell и т.д.); 3) антиглобулиновый, содержащий антитела (поли- или моноспецифические) к иммуноглобулинам

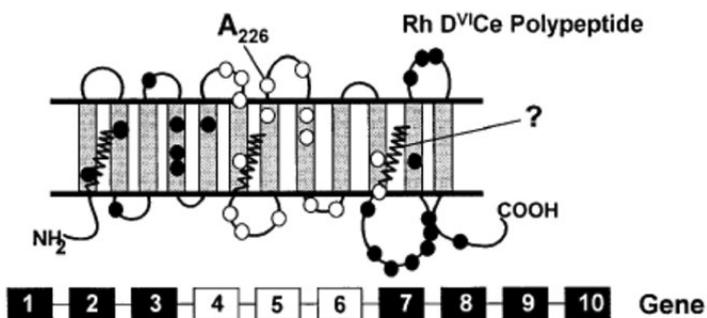


Рис. 3. В результате генной конверсии ряд эпитопов антигена D утрачивается и заменяется на эпитопы других антигенов (экзоны 4, 5 и 6 претерпели качественное изменение)

Fig. 3. As a result of gene conversion a number of antigen D epitopes are lost and replaced by epitopes of other antigens (exons 4, 5 and 6 have undergone a qualitative change)

человека и компонентам системы комплемента (применяется для прямого и непрямого антиглобулинового теста (реакции Кумбса), при поиске и идентификации ауто- и аллоиммунных антител, пробе на совместимость крови донора и реципиента).

Исследуемые или стандартные эритроциты и исследуемая сыворотка (плазма) помещаются в соответствующие микропробирки, где происходит реакция агглютинации, затем идентификационные карты центрифугируются для разделения результатов реакции. При этом неагглютинированные эритроциты свободно проходят между частицами геля и образуют на дне микропробирки компактный осадок красного цвета – отрицательный результат, агглютинированные же располагаются на поверхности или в слое геля (в зависимости от размеров агглютинатов) – положительный результат.

В зависимости от силы реакции агглютинации в гелевой среде принята следующая оценка полученных результатов (рис. 4):

- сильноположительный (++++) – образовавшиеся агглютинаты эритроцитов задержались на поверхности геля;
- положительный (+++) – агглютинаты располагаются в верхней трети столбика геля;
- слабopоложительный (++) – агглютинаты зафиксированы в верхних двух третях геля;
- очень слабopоложительный (+) – агглютинаты располагаются в нижней трети геля;
- отрицательный (–) – эритроциты формируют на дне микропробирки компактный осадок.

Размер частиц геля, специальный подбор моно- или поликлональных антител позволяют достичь наилучших данных чувствительности и специфичности, а прозрачность геля делает считывание результатов более надежным и позволяет интерпретировать самые сложные диагностические случаи (включая Dw, DVI).

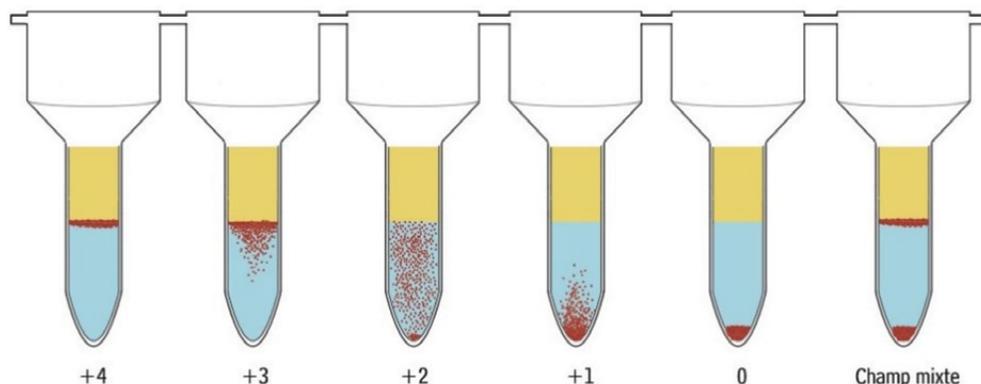


Рис. 4. Варианты результатов исследования с применением гелевой технологии (пояснение в тексте)

Fig. 4. Variants of the study results using gel technology (the explanation is in the text)



К другим преимуществам описываемой технологии следует отнести: удобство и простоту исследования; повышение безопасности персонала; отсутствие этапов отмывания эритроцитов; исследование крови, заготовленной на консервантах и стабилизаторах без искажения результатов; сокращение времени на проведение полного иммуногематологического исследования в 2–5 раз (особенно в автоматическом режиме с компьютерной обработкой результатов); снижение риска заражения персонала инфекциями, передающимися через кровь; возможность использования небольших объемов крови, что наиболее актуально в неонатологии и педиатрии.

Несмотря на то что использование реактивов на основе моноклональных антител в последние годы значительно улучшило качество типирования антигенов эритроцитов, в сложно диагностируемых случаях, связанных с выявлением антигена D, встречаются затруднения [16, 20]. Это объясняется тем, что количество сайтов антигена D на эритроцитах у слабых типов D варьирует от 70 до 4000 по сравнению с 13 000–24 000 для нормально выраженного антигена D [17, 67, 68]. Уменьшение количества эпитопов антигена D на мембране эритроцитов приводит к слабой агглютинации или ее отсутствию при тестировании образца крови серологическими методами [50]. Кроме того, при определении RhD-принадлежности крови возможны расхождения результатов, полученных при использовании различных методов исследований или реагентов разных производителей [40]. В таких случаях достоверный результат можно получить только с помощью молекулярно-генетического анализа [19]. За рубежом разработаны и успешно применяются методы генотипирования, позволяющие достоверно определять присутствие тех или иных вариантов антигенов на клетках крови [21, 41, 50].

Различные фенотипы и генотипы вариантов RhD имеют особое клиническое значение и требуют стратегий переливания крови [57]. Несоответствие группы крови RhD у донора и реципиента может вызвать острый тяжелый иммунный ответ, приводящий к гемолитической болезни новорожденных, гемолитической реакции переливания крови и аутоиммунной гемолитической болезни. Следовательно, генотипирование требуется для определения молекулярных характеристик доноров или реципиентов с вариантом RhD, что полезно для лечения заболевания. Как альтернатива рутинному серологическому тестированию генотипирование имеет значительное потенциальное значение в клинической практике.

В службе крови Беларуси с 2019 г. применяется только неинвазивный метод определения RhD плода по крови матери. ДНК плода (ffDNA – fetal free DNA), извлеченную из венозной крови беременной женщины, впервые выделили в 1997 г. Y.M.D. Lo et al. [37]. На сегодняшний день доказано, что циркулирующая ffDNA появляется в маточном кровотоке в исходе апоптоза и некроза ядросодержащих клеточных элементов плаценты, созревания эритроцитов и тромбоцитов, активного выделения клетками нуклеиновых кислот во внеклеточное пространство, а также деградации плодовых эритроцитов, проникающих через фетоплацентарный барьер [5].

Уже с 5-й недели гестации фетальная внеклеточная ДНК может быть обнаружена в материнском кровотоке и позволяет получить достоверный результат к 7 неделям беременности (более 4%). При этом уровень ее растет на протяжении всего гравидарного периода (на 0,1% в неделю с 10-й по 21-ю неделю беременности и на 1% после 21-й недели гестации), достигая максимума перед родами [5, 69].

В 2011 г. сформировался новый лабораторный неинвазивный пренатальный тест (НИПТ) обследования плода с помощью анализа cfDNA. Метод получил официальное признание Международной ассоциации по пренатальной диагностике и стал использоваться для детекции сначала болезни Дауна, а затем и трисомий по другим аутосомам. После ряда усовершенствований технологии секвенирования тест ДНК стал применяться и для определения RhD-принадлежности плода [48].

Трудность в исследовании молекулярного механизма Rh-группы крови заключается не только в анализе последовательности, но и в выявлении рекомбинации RHD-CE и изменения числа копий гена RHD [28]. Однако в этой области доступно несколько точных методов выявления. Количество копий гена RHD напрямую влияет на экспрессию его поверхностного антигена, что имеет большое значение для пренатальной диагностики и профилактики гемолитической болезни плода и новорожденного [43].

Следовательно, определение количества копий гена RHD имеет решающее значение. В настоящее время анализ MLPA и гибридизационный боксовый тест являются относительно подходящими методами для выявления гетерозиготности.

■ ВЫВОДЫ

1. В хронологии изучения системы Rh и ее антигена RhD можно выделить три периода: а) открытия системы антигенов эритроцитов Rh-Hr с применением сывороток, изготовленных кустарными методами (1940–1960 гг.); б) совершенствования способов массового получения сыворотки антирезус и серологических методов определения антигена RhD (1961–1991 гг.); в) изучения полиморфизма RhD с применением стандартизированных моноклональных реагентов и молекулярно-генетических методов (с 1992 г. по настоящее время).
2. Результаты многочисленных исследований доказывают значительное разнообразие вариантов антигенов RhD и RhCE. Определены оптимальные серологические методы для выявления полиморфизма антигенов системы, присутствие которых можно в основном предположить по расхождению результатов серологических методов исследования, непрямого антиглобулинового теста в гелевых колонках. Это объясняется тем, что в настоящее время в иммуногематологической практике нет серологических методов и реактивов, которые обеспечивали бы определение всех без исключения типов D weak.
3. Внедрение в практику иммуногематологических лабораторий методов молекулярно-генетического типирования гена RHD должно способствовать персонализации трансфузионной терапии компонентами крови, повышению безопасности гемотрансфузий и улучшению профилактики аллоиммунизации реципиентов и беременных женщин, а также обеспечить диагностику RhD плода неинвазивным методом по крови RhD-отрицательной матери.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Agre P.C., Davies D.M., Issitt P.D., et al. A proposal to standardize terminology for weak D antigen. *Transfusion*. 1992;32:86–7.
2. Ajlamazyan E.K., Pavlova N.G. (2012) *Isoimmunization during pregnancy*. SPb.: N-L. (in Russian)
3. Ashkenazi A.Ya. (1964) *On the mass determination of the Rh factor (obtaining large amounts of universal serum antiresus and the expression method for determining the Rh factor)*: Murmansk – Leningrad. (in Russian)



4. Avent N.D., Madgett T.E., Lee Z.E., et al. Molecular biology of Rh protein and relevance to molecular medicine. *Exp Rev Mol Med*. 2006;8:1–20. DOI: 10.1017/S1462399406010969
5. Baranov V.S., Kuznecova T.V., Kasheeva T.K., et al. (2017) *Prenatal diagnosis of hereditary diseases. Status and prospects*. SPb: Eko-Vektor. (in Russian)
6. Bartashevich T.S., Puzevskaya R.M. The Rh factor and its significance in blood transfusion. Proceedings of *BNIPK*. 1950;136–145. (in Russian)
7. Bashlaj A.G. On the accelerated determination of Rh factor and immune Rh antibodies by agglutination with gelatin. *Problems of hematology*. 1960;7:56–58. (in Russian)
8. Belozeroва V.I. (1997) *Obtaining immunoglobulin antiresus and its use for the prevention of sensitization to the Rh factor*. diss. k. m. n. (in Russian)
9. Beluga M.V. Rhesus conflict: Past and present in problem solving. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2012;1:24–9. (in Russian)
10. Blinov N.I. (1947) On-site preparation technique of standards for determining the Rh factor. *Proceedings of Belarusian Institute of Blood Transfusion*. T.4. Minsk. (in Russian)
11. Clarke C.A. Prevention of Rhesus isoimmunization. *Lancet*. 1968;2(7558):1–7.
12. Coombs R.R.A., Mourant A.E., Race R.R. A new test for the detection of weak and 'incomplete' Rh agglutinins. *Brit J Exp Pathol*. 1945;26:255–266.
13. Daniels G. Variants of RhD – current testing and clinical consequences. *Br J Haematol*. 2013;161:461–70. DOI: 10.1111/bjh.12275
14. Donskov S.I., Morokov V.A. (2011) *Human blood groups*. M.: GEOTAR-Media. (in Russian)
15. Finn R., Clarke C.A., Donohoe W.T.A., et al. // *Br. Med. J.* – 1961. – Vol. 1. – P. 1486.,
16. Flegel W.A. Modern Rhesus (Rh) typing in transfusion and pregnancy. *CMAJ*. 2021;193(4):E124. DOI: 10.1503/cmaj.201212
17. Flegel W.A., Zabern I.V., Wagner F.F. Six years' experience performing RHD genotyping to confirm D – red blood cell units in Germany for preventing anti-D immunizations. *Transfusion*. 2009;49:465–471. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2008.01975.x
18. Freda V., Gorman J., Pollack W. Successful prevention of experimental Rh-sensitization preliminary report. *Transfusion (Philad.)*. 1964;4:26–32.
19. Garratty G. Do we need to be more concerned about weak D antigens? *Transfusion*. 2005;45:1547–1551. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2005.00625.x
20. Golovkina L.L., Kalandarov R.S., Pshenichnikova O.S., et al. Identification of common and new rare types of weak RhD antigen in patients with diseases of the blood system and healthy individuals. *Onkologematologiya*. 2019;14(3):52–59. DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-3-52-59 (in Russian)
21. Golovkina L.L., Stremouhova A.G., Pushkina T.D., et al. Molecular serological characteristics of the types of weak antigen D of the rhesus system. *Therapeutic archive*. 2016;88(7):78–83. (in Russian)
22. Gol'dinberg B.M. (2012) *Clinical aspects of isoserology in obstetrics and neonatology*. Minsk: Law and Economics. (in Russian)
23. Gol'dinberg B.M. Famous fellow countrymen doctors. Philip Levin from Kletsk (for the 120th anniversary of his birth). *The world of medicine*. 2020;7:45–48. (in Russian)
24. Gol'dinberg B.M., Karpenko F.N., Klimovich O.V. (2023) *Belarus Blood Service: yesterday, today, tomorrow*. Minsk: Kolorgrad. (in Russian)
25. Goldinberg B.M., Klimovich O.V., Sekretova E.B. The formation of clinical transfusiology in Belarus (on the 100th anniversary of the first blood transfusion in the national medicine). *Hematology. Transfusiology. Eastern Europe*. 2023;9(2):94–101. doi. org/10.34883/Pl.2023.9.1.001 (in Russian)
26. Gol'dinberg B.M., Polyko V.L., Mihnenok O.A. Features of distribution and transfusion significance of erythrocyte blood groups according to the ABO, Rh, Kell systems and the population of the Baranovichy district of Belarus. *Hematology. Transfusiology. Eastern Europe*. 2024;1(4):483–496. doi.org/10.34883/Pl.2024.10.1.006 (in Russian)
27. Grove-Rasmussen M., Levine P. Occurrence of anti-D and anti-E in absence of obvious antigenic stimuli. *Am. J. Clinical Pathology*. 1954;24: 145–149.
28. Haer-Wigman L., Veldhuisen B., Jonkers R., et al. RHD and RHCE Variant and Zygosity Genotyping via Multiplex Ligation–Dependent Probe Amplification. *Transfusion*. 2013;53:1559–74. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2012.03919.x
29. Haramonenko S.S. The chemical nature of human blood agglutinogens. *Modern problems of hematology and blood transfusion*. 1955;31:53–54. (in Russian)
30. Haramonenko S.S., Rakityanskaya A.A. (1974) *Electrophoresis of blood cells in normal and pathological conditions*. Minsk. (in Russian)
31. Ivanov L.V. (1965) *Obtaining large amounts of universal antiresus serums from serums of groups O, A and B containing Rh-antitela* [Tekst]: abstract. dis. k. m. n. Smolensk. (in Russian)
32. Kleinhauer K., Betke K. Demonstration von fetalen Haemoglobin in den Erythrozyten eines Blutaussstrichs. *Klin. Wschr*. 1957;35:637–640. (in German)
33. Kornstad L., Ryttinger L., Hogman C. Two sera containing probably naturally occurring anti-Cw, one of them also containing a naturally occurring anti-Wra. *Vox Sang*. 1960;5:330.
34. Kosyakov P.N., Muraveva J.I.N. Blood group antigens in ontogenesis. *Bulletin of Expert Biology*. 1962;9:78. (in Russian)
35. Kwon D.H., Sandler S.G., Flegel W.A. DEL phenotype. *Immunohematology*. 2017;33(3):125–32.
36. Layrisse M., Arends T. Nuevo grupo sanguineo encontrado en descendientes de Indios. *Acta Med. Venezol*. 1955;3(4):132–138.
37. Lo Y.M.D., Corbetta N., Chamberlain P.F., et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997, Aug 16;350:485–487.
38. Masik M.G., Cal Yu.A. (1965) Isoimmune antibodies in multiple transfusions. Abstracts of the 42nd plenum of the Scientific Council of the college "Immunology and blood products". M. (in Russian)
39. Mellison P.L., Mourant A.E., Race R.R. (1952) *The Rh-bloodgroups and their clinical effects*. Privy Council. Medical Research Council Memorandum № 27. London. P. 27.
40. Mineeva N.V. (2020) *Human blood groups. Fundamentals of immunohematology*. SPb: Gangut. (in Russian)
41. Mineeva N.V., Gavrovskaya S.V., Syssoeva E.A., et al. The use of the method of molecular genetic typing to determine variants of weak antigen D in the diagnosis of rhesus affiliation. *Kazan Medical Journal*. 2023;104(3):325–331. DOI: 10.17816/KMJ119540 (in Russian)
42. Mourant A.E. The distribution of the human blood group. *Blackwell Scientific Publications*. Oxford, 1954. Vol. 1.
43. Pirelli K.J., Pietz B.C., Johnson S.T., et al. Molecular Determination of RHD Zygosity: Predicting Risk of Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn Related to Anti-D. *Prenat Diagn*. 2010;30(12–13):1207–12. DOI: 10.1002/pd.2652
44. Prokop O., Gyoler V. (1991) *Human blood groups*. M.: Medicina. (in Russian)
45. Puzevskaya R.M. Obtaining and using human antiresus serums and comparative evaluation of methods for determining the Rh factor. *Trudy BNIPK*. 1957;VI:176–180. (in Russian)
46. Race R.R., Sanger R. (1950) *Blood Group in Man*. Oxford, England: Blackwell. Pp. 218–221.
47. Rakityanskaya A.A. (1956) *The significance of species-specific products of blood destruction and their protein complexes in the body's response to blood transfusion: abstract*. Minsk. (in Russian)

48. Rouillac Le Sciellour C., Sérazin V., Brossard Y., et al. Noninvasive fetal RHD genotyping from maternal plasma. Use of a new developed Free DNA Fetal Kit RhD. *Transfus. Clin. Biol.* 2007;14(6):572–577.
49. Filatov A.N. (ed.) (1965) *Guidelines for the use of blood and blood substitutes*. L.: Medicina. (in Russian)
50. Sandler S.G., Chen L.N., Flegel W.A. Serological weak D phenotypes: A review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype. *Br J Haematol.* 2017;179(1):10–19. DOI: 10.1111/bjh.14757
51. Sandler S.G., Horn T., Keller J., et al. A model for integrating molecular-based testing in a transfusion service. *Blood Transfus.* 2016;14(6):566–572. DOI: 10.2450/2015.0070-15
52. Savel'eva G.M., Konoplyannikov A.G., Kurcer M.A., et al. (2013) Hemolytic disease of fetus and newborn. M.: GEOTAR-Media. (in Russian)
53. Scott M. Section 1A. Rh serology. Coordinators report. *Transfus Clin Biol.* 2002; 9:23–9. DOI: 10.1016/s1246-7820(01)00211-7
54. Shao C.P., Maas J.H., Su Y.Q., et al. Molecular background of Rh D-positive, D-negative, D(el) and weak D phenotypes in Chinese. *Vox Sang.* 2002;83(2):156–61. DOI: 10.1046/j.1423-0410.2002.00192.x
55. Sidelnikova V.M., Antonov A.G. (2004) *Hemolytic disease of fetus and newborn*. M.: Triada-X. (in Russian)
56. Solov'eva T.N. (1963) *The Rh factor and its significance in clinical practice*. Leningrad. (in Russian)
57. Sreelekshmi S., Shastry S., Poornima Baliga B. Variable Reactivity of Rh D Antigen and its Serological Characterization. *Acta Clin. Belg.* 2021;76(5):346–50. DOI: 10.1080/17843286.2020.1735115
58. Stratton F. A new Rh allomorph. *Nature.* 1946;58:25–26.
59. Tabolin V.A. (1967) *Bilirubin metabolism and neonatal jaundice*. M.: Medicina. (in Russian)
60. Tippett P., Sanger R. Further observations of subdivisions of the Rh antigen D. *Arztl Lab.* 1977;23:476–80.
61. Transfusion 2004;44:703, AABB: Technical Manual, 19th Edition, 2017.
62. Umnova M.A., Ichalovskaya T.A., Bejlina V.B., et al. Features of blood selection and compatibility testing in patients with transfusion complications. *Problems of hematology.* 1967;7:3–7. (in Russian)
63. Uspenskaya O.V. (1966) *Materials on increasing the resources of antiresus serum, development of methods for determining Rh factor and Rh antibodies and their usage in clinics: abstract*. (in Russian)
64. Vinograd-Frenkel F.R.B., Skopina S.B. The role of the Rh factor in the development and prevention of post-transfusion complications. *Modern problems of hematology and blood transfusion.* 1952;27. (in Russian)
65. Volkova Ji. S. Immunohematology in obstetric practice. *Problems of hematology and blood transfusion.* 1961;1:6–10. (in Russian)
66. Volkova O.Ya. (2008) The use of Scangel gel technology for immunohematological blood tests of donors and recipients of hemocomponents. *Methodological recommendations*. SPb. (in Russian)
67. Wagner F.F., Gassner C., Muller T.H., et al. Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood.* 1999;93(1):385–93.
68. Wagner F.F., Frohmajer A., Ladewig B., et al. Weak D alleles express distinct phenotypes. *Blood.* 2000;95(8):2699–2708. DOI: 10.1182/blood.V95.8.2699.008k12_2699_2708
69. Wang E., Batey A., Struble C., et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn.* 2013;33(7):662–666.



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.4.007>
УДК 616-097:612.112.94:612.017.11



Цеханович Д.А.✉, Шитикова М.Г., Шарапова С.О., Сакович И.С., Купчинская А.Н.,
Жаранкова Ю.С., Белевцев М.В.

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии
и иммунологии, Минск, Беларусь

T-регуляторные лимфоциты у пациентов с первичными иммунодефицитами: определение, возможности и перспективы

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Цеханович Д.А. – сбор данных, обзор литературы, обработка данных, написание текста; Шитикова М.Г., Шарапова С.О., Сакович И.С., Купчинская А.Н., Жаранкова Ю.С. – сбор материала, обработка данных, анализ и интерпретация результатов; Белевцев М.В. – концепция и дизайн исследования, редактирование.

Подана: 20.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: dima29non@gmail.com

Резюме

T-регуляторные клетки (Treg) играют ключевую роль в поддержании иммунологической толерантности и предотвращении аутоиммунных реакций. Основная функция Treg – поддержание иммунологической толерантности путем подавления активации других клеток иммунной системы. Исследования патологий, охватывающих Treg, предоставляют важную информацию о биологии клеток, роли молекул, связанных с Treg-клетками, и в частности регуляции периферической толерантности. Трегопатии – это термин, используемый для описания болезней, связанных с нарушением функций или численности Treg. Дефекты в функциональном потенциале могут привести к развитию различных иммунных нарушений, таких как аутоиммунные заболевания, аллергии, онкология и иммунодефицитные состояния. Диагностика и лечение этих заболеваний представляют собой сложную задачу, требующую индивидуального подхода к каждому пациенту. Несмотря на сложности, потенциал терапии на основе Treg огромен, и исследования, проводимые в этом направлении, продолжают открывать новые возможности к лечению широкого диапазона заболеваний, связанных с дисфункцией иммунной системы. В данном обзоре будет изучена роль Treg у пациентов с первичными иммунодефицитами. Выявлено достоверное снижение количества Treg в периферической крови пациентов с синдромом активированной фосфоинозитид-3-киназы дельта, синдромом Луи-Бар и синдромом Неймегена, и не установлено статистической значимости у пациентов с хронической гранулематозной болезнью, синдромом Ди Джорджи, аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом и синдромом Вискотта – Олдрича. Также рассмотрены патогенетические механизмы, клиническая картина, диагностика, текущие и будущие перспективы клинического изучения Treg у пациентов с первичными иммунодефицитами.

Ключевые слова: первичные иммунодефициты, регуляторные T-лимфоциты, точная цитофлуориметрия

Tsekhanovich D.✉, Shitikova M., Sharapova S., Sakovich I., Kupchinskaya A.,
Zharankova Yu., Belevtsev M.

Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology
and Immunology, Minsk, Belarus

T-Regulatory Lymphocytes in Patients with Primary Immunodeficiencies: Definition, Capabilities and Prospects

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Tsekhanovich D. – data collection, literature review, data processing, text writing; Shitikova M., Sharapova S., Sakovich I., Kupchinskaya A., Zharankova Yu. – collection of material, data processing, analysis and interpretation of results; Belevtsev M. – concept and design of the study, editing.

Submitted: 20.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: dima29non@gmail.com

Abstract

T-regulatory cells (Treg) play a key role in maintaining immune tolerance and preventing autoimmune reactions. The main function of Treg is to maintain immune tolerance by suppressing the activation of other cells of the immune system. Studies of pathologies involving Treg provide important information about cell biology, the role of Treg-associated molecules, and in particular the regulation of peripheral tolerance. Tregopathy is a term used to describe diseases associated with impaired function or number of Treg. Defects in the functional potential can lead to the development of various immune disorders, such as autoimmune diseases, allergies, cancer, and immunodeficiency states. Diagnosis and treatment of these diseases are a complex task that requires an individual approach to each patient. Despite the difficulties, the potential of Treg-based therapy is enormous, and research in this direction continues to open new avenues for the treatment of a wide range of diseases associated with immune dysfunction. This review examines the role of Tregs in patients with primary immunodeficiencies. A significant decrease in the number of Tregs in the peripheral blood of patients with activated phosphoinositide 3-kinase delta syndrome, Louis-Bar syndrome, and Nijmegen syndrome was found, and no statistical significance was found in patients with chronic granulomatous disease, Di-George syndrome, autoimmune lymphoproliferative syndrome, and Wiskott – Aldrich syndrome. Pathogenesis mechanisms, clinical presentation, diagnostics, and current and future prospects for clinical study of Tregs in patients with primary immunodeficiencies are also discussed.

Keywords: primary immunodeficiencies, regulatory T-lymphocytes, flow cytometry

■ ВВЕДЕНИЕ

Регуляторные Т-клетки (Treg) представляют собой специфическую подгруппу Т-клеток, выполняющую основную роль во многих важных иммунных путях, регулируют иммунные реакции на собственные и чужеродные антигены, контролируют



воспаление и иммунный надзор. Treg подавляют активацию и экспансию эффекторных функций Т-клеток, которые опосредуют иммунные ответы после распознавания патогена или аллоантигена.

Они играют решающую роль в поддержании иммунного баланса, предотвращении чрезмерных иммунных реакций и аутоиммунитета. Дисфункция субпопуляции может привести к тяжелым иммуноопосредованным хроническим воспалительным заболеваниям на фоне развивающегося иммунодефицитного состояния, вызванного генетическими мутациями, влияющими на развитие или функцию Т-лимфоцитов. Более того, дисфункция также наблюдается при других патологиях, основные механизмы которых остаются в значительной степени неизвестными.

Treg осуществляют важную роль в поддержании иммунологического равновесия и предотвращении чрезмерных иммунных ответов. Способны контролировать активацию других клеток иммунной системы, предотвращая таким образом чрезмерные воспалительные процессы и подавляя аутоиммунные реакции. Важно отметить, что не только дефицит функции может привести к различным патологиям, но и избыточная активация или неконтролируемое размножение этих клеток могут сыграть роль в развитии определенных заболеваний [2].

Изучение разнообразия субпопуляций Treg и их точной роли в патогенезе иммунных нарушений представляет собой сложную задачу, требующую дальнейших исследований и разработок в области иммунологии. Исследования в области иммунного ответа также могут привести к разработке инновационных методов лечения, основанных на модуляции активности этих клеток. Кроме того, дальнейшие исследования помогут лучше понять взаимодействие Treg с другими компонентами иммунной системы, что может привести к созданию новых подходов к терапии различных заболеваний. Развитие новых методов диагностики, позволяющих оценивать функциональную активность этих Т-клеток у пациентов, также может сыграть важную роль в персонализированной медицине.

Таким образом, исследования, связанные с Treg и их влиянием на иммунный ответ, представляют собой актуальную и перспективную область в иммунологии, способную привести к разработке новых подходов к лечению и профилактике различных заболеваний. Дополнительные исследования в этой области также могут обусловить новые открытия о механизмах контроля иммунного ответа и его регуляции.

В этом обзоре мы суммируем современные знания об идентичности и функции Treg человека, а также предоставляем наши собственные данные о роли данных клеток у пациентов с различными иммунодефицитными состояниями.

История открытия. Интерес к Treg как основной популяции клеток периферической крови, способной подавлять развитие воспалительных реакций, не угасает уже многие годы. Снижение же функциональной активности Treg приводило к нарушению толерантности к собственным антигенам организма и развитию аутоиммунных патологических состояний.

Первые данные об обнаружении Treg приходятся на начало 1970-х гг., когда выдвигалась теория тимического происхождения супрессивных клеток, участвующих в различных заболеваниях. Treg вызвали большой интерес к иммунной регуляции, и было замечено, что эти супрессорные Т-клетки способны замедлять аутоиммунные заболевания на моделях грызунов [3].

Точные молекулярные механизмы, которые способствуют дифференцировке Treg, остаются все еще в значительной степени неопределенными. Детальное понимание развития Treg стало возможным благодаря изучению мышиных моделей, тогда как сопоставимые и дополнительные исследования на людях были значительно сложнее.

Мишенями Treg являются все клетки врожденного (тканевые макрофаги, антигенпрезентирующие клетки, натуральные киллеры) и приобретенного иммунитета (эффекторные цитотоксические T-лимфоциты и T-хелперы, а также B-лимфоциты). Для реализации функций Treg используют различные механизмы, опосредованные действием высвобождаемых различных растворимых молекул и взаимодействием рецепторов и поверхностных структур на клетке-мишени [6].

В течение десятилетия 1990-х гг. было сделано несколько основополагающих открытий. Прежде всего, было замечено, что эти клетки экспрессируют высокие уровни альфа-цепи рецептора IL-2 (IL-2R α , CD25), который в настоящее время является одним из маркеров, используемых для характеристики Treg. Несмотря на растущие знания, человеческие Treg не были обнаружены до 2001 г. как в тимусе, так и на периферии. Идентификация аутоиммунных мышей и синдрома иммунной дисрегуляции (IPEX) у людей, вызванной потерей функции гена FoxP3, указывает на роль этого гена в функции Treg. Несколько лет спустя, в 2003 г., экспрессия FoxP3 была обнаружена в Treg у мышей, а позже и у людей. Экспрессия FoxP3 коррелировала с уровнями CD25, и в 2006 г., благодаря открытию обратной корреляции между CD127 (рецептором IL-7) и FoxP3, определение Treg с помощью поверхностных маркеров было следующим образом: CD3⁺CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low}, который по-прежнему является наиболее распространенным фенотипом, используемым для их характеристики с помощью проточной цитометрии [7].

Субпопуляции Treg. Популяция Treg не является однородной. Описаны как минимум 2 субпопуляции, циркулирующие в периферической крови и принципиально различающиеся по происхождению. Тимические или натуральные регуляторные T-лимфоциты (от англ. thymus derived или natural Treg – nTregs или tTregs) проходят дифференцировку в тимусе в ходе антиген-независимой стадии созревания T-клеток. nTregs обладают фенотипом наивных клеток периферической крови CD45RA⁺CD45RO⁻CD62L⁺CCR7⁺. Другая популяция клеток – периферические или индуцибельные Treg (от англ. peripherally derived, induced или adaptive Treg – iTregs) – формируется в процессе дифференцировки в периферических лимфоидных органах [10].

Клетки tTreg присутствуют с низкой частотой, составляя примерно 5% от общего числа CD4⁺ T-клеток в периферической крови. Хотя абсолютное количество клеток tTreg снижается от младенчества к взрослому возрасту (что соответствует снижению лимфопоэза), в период развития их частота относительно CD4⁺ T-клеток остается стабильной [9].

Как отмечалось ранее, до сих пор не хватает специфических маркеров для дифференциации tTreg и iTreg. Недавние исследования предложили использовать белок IKZF2, кодирующий транскрипционный фактор Helios, способный вызывать множественные нарушения в работе иммунной системы, в качестве возможного дифференцирующего фактора tTreg. Экспрессия Helios демонстрирует высокую корреляцию с tTreg, тогда как iTreg в основном представляют собой сниженную экспрессию Helios.



Однако Helios еще не признан окончательным маркером для дифференциации tTreg и iTreg, поскольку многие вопросы все еще остаются без ответа [4].

Хотя исследования Treg всегда были больше сосредоточены на популяции CD4⁺T-клеток, популяции CD8⁺Treg, ответственные за толерантность, описаны у мышей еще в 1970-х гг. В течение этого десятилетия также наблюдалось, что большинство T-клеток CD8⁺ с супрессорной функцией были клетками памяти, экспрессирующими высокий уровень CD122 и Ly49, и что они зависели от экспрессии Helios, в отличие от CD4 Treg, которые зависят от FoxP3. Другие исследования на людях определяют CD8⁺Treg в зависимости от их экспрессии CD28, FoxP3, CD122 или Helios.

Механизмы иммуносупрессии Treg. Ключевыми иммунорегуляторными гуморальными факторами Treg человека являются IL-10, TGFb, IL-35, а также внеклеточный аденозин, который образуется путем гидролиза внеклеточного АТФ ферментами CD39 и CD73, локализованными на цитоплазматической мембране Treg [14]. Основными механизмами иммуносупрессии являются:

1. Угнетение продукции провоспалительных цитокинов, и в первую очередь IL-12, играющего ведущую роль в поляризации Th0 в сторону Th1, что приводит к снижению продукции IFN γ и формированию эффекторных Th1.
2. За счет блока эффектов IFN γ усиление дифференцировки тканевых макрофагов, которые также являются продуцентами противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGFb.
3. Снижение эффективности взаимодействия между антиген-презентирующими клетками и антиген-распознающими клетками путем блокировки передачи сигнала от TCR в ядро лимфоцитов. Снижение экспрессии костимулирующих молекул CD80 и CD86 и комплексов антиген-МНС II, что существенно ограничивает пролиферативную активность, созревание и дифференцировку клона антиген-специфических лимфоцитов (как Т-хелперов, так и цитотоксических Т-лимфоцитов).

Под действием TGFb снижается уровень активации тканевых макрофагов, дендритных клеток и натуральных киллеров, равно как и пролиферация активированных В-лимфоцитов. TGFb снижает пролиферативную активность активированных Т-лимфоцитов за счет подавления синтеза и секреции IL-2 и подавляет их дифференцировку в эффекторные клетки (как Т-хелперов, так и эффекторных цитотоксических Т-лимфоцитов). TGFb, стимулируя экспрессию транскрипционного фактора FoxP3, способствует преимущественной экспансии Treg. Учитывая центральную роль FoxP3 в дифференцировке и функционировании Treg, понимание механизмов, которые регулируют его экспрессию, имеет решающее значение для понимания биологии Treg. Конститутивно высокая экспрессия ядерного FoxP3 не только является фенотипическим маркером Treg, но и необходима для установления регуляторной активности клеток [14].

Контактные механизмы иммуносупрессии основаны на взаимодействии рецепторов Treg с их лигандами на клетке-мишени. CTLA-4 (от англ. Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, или CD152) представляет собой коингибирующую поверхностную молекулу, которая конститутивно экспрессируется в Treg. Это не уникальный Treg-маркер, поскольку он также присутствует в активированных лимфоцитах. Главными лигандами CTLA-4 являются костимулирующие молекулы CD80 и CD86. Эти молекулы также являются лигандами активационной костимулирующей молекулы CD28. Связывание CTLA-4 активированных лимфоцитов с CD80 и CD86,

присутствующими на поверхности дендритных клеток, ингибирует их, восстанавливая иммунный гомеостаз после того, как они выполнили свою задачу. В этом контексте CTLA-4 действует как иммунный контрольный пункт, предотвращающий чрезмерную реактивность иммунной системы [8]. Однако роль CTLA-4 в Treg не совсем ясна. Предполагается, что CTLA-4 из Treg связывается с CD80/CD86 в ДК и подавляет их экспрессию. Поскольку этот сигнал от дендритных клеток необходим для завершения активации Т-клеток во время презентации антигена, такое подавление будет снижать активацию Т-клеток, что, в свою очередь, будет способствовать восстановлению иммунного гомеостаза [19].

PD-1 (от англ. Programmed cell death protein 1, или CD279) – мембранный белок Т- и В-клеток, при взаимодействии с которым происходит активация апоптоза антигенспецифических Т-клеток и угнетение регуляторных Т-клеток [2].

Также Treg способны вызывать апоптоз эффекторных клеток при помощи 2 основных механизмов. Во-первых, Treg индуцируют апоптоз за счет секреции в окружающее пространство перфорина и гранзимов, как это показано для натуральных киллеров и эффекторных цитотоксических Т-лимфоцитов. Во-вторых, индукции апоптоза клеток-мишеней реализуются за счет экспрессии на поверхности Treg галектина-9 (Gal-9), способного связываться с TIM-3 (от англ. T-cell immunoglobulin and mucin domain 3, или CD366) на поверхности зрелых эффекторных клеток. Результатом такого взаимодействия является активации каспаз в клетке-мишени. Кроме того, за счет Gal-9 осуществляется подавление пролиферации антиген-специфических Т-клеток [11].

Относительный баланс механизмов подавления, используемых отдельными Treg, может зависеть от клеток-мишеней и тканевой среды. Зрелый Treg может подвергаться дальнейшей дифференцировке на периферии или модулировать профиль экспрессии своих генов в ответ на состояние активации, отличительную среду или взаимодействия с различными клетками иммунной системы [9].

Особенности нарушения развития Treg при первичных иммунодефицитах.

Первичные иммунодефициты (ПИД) – это группа заболеваний, влияющих на правильное функционирование иммунной системы, большинство из которых имеют генетическое происхождение. Поскольку иммунная система защищает нас от различных патогенов, пациенты с ПИД страдают от широкого спектра тяжелых и/или рецидивирующих инфекций. Наличие аутоиммунитета в контексте иммунодефицита предполагает парадокс с 2 противоположными патологиями, где одна предлагает избыток, а другая – дефект ответа. Из-за этого увеличивающегося фенотипа и роста числа обнаруживаемых генетических дефектов, некоторые из которых вызывают усиление функций, а не только их потерю, IUIS предложил в 2019 г. смену парадигмы. С тех пор и по сей день ПИД известны как врожденные ошибки иммунитета (ВОИ), и классификация этих заболеваний обновляется каждые 2 года [1].

Дефекты Treg-клеток попадают под категорию заболеваний иммунной дисрегуляции. В 2018 г. впервые был введен термин «трегопатии»: он относился к группе ПИД с клиническим фенотипом, в которых затронутой регуляторной мишенью является сама клетка Treg [6].

Согласно последней опубликованной классификации первичных иммунодефицитов, существует 9 различных генных дефектов, которые проявляются аутоиммунитетом и определяются как трегопатии. В дополнение к классической иммунной



дисрегуляции, полиэндокринопатии, энтеропатии и X-сцепленному (IPEX) синдрому, обусловленному мутацией FoxP3, лучше всего охарактеризованы дефициты CD25, CTLA4 и LRBA, то есть отсутствие молекул, которые очень важны для развития Treg и их функционального потенциала, как упоминалось ранее в нашем обзоре. Другие признанные трегопатии связаны с рядом других дефектов. Эти различные типы иммунных нарушений, зависящих от Treg-клеток, часто имеют схожую клиническую картину, но могут потребовать разного лечения. Поэтому глубокая характеристика базовой биологии дефектов, вызывающих трегопатии, желательна для улучшения их диагностики и лечения.

IPEX-синдром (I – иммунная дисрегуляция, P – полиэндокринопатия, E – энтеропатия, X – сцепленная с X-хромосомой). IPEX впервые выявлен в 1982 г. Powell et al. и был первым заболеванием, связанным с дефектом Treg. В раннем возрасте он проявляется широким спектром аутоиммунных нарушений. Энтеропатия с водянистой рефрактерной диареей является типичным распространенным симптомом IPEX и по крайней мере в половине случаев предшествует или сопровождается аутоиммунным диабетом 1-го типа (СД1). Другими распространенными признаками являются кожные заболевания в виде тяжелой экземы или псориаза и цитопении [21].

IPEX образуется в результате мутаций транскрипционного фактора FoxP3, что приводит к потере рецепторной функции. Однако несколько исследований показали, что ген FoxP3 важен не для формирования линии Treg, а скорее для его супрессивных эффекторных функций, поскольку он контролирует экспрессию различных регуляторных молекул, таких как TIGIT, CTLA-4 и подавление гена IL-2 и различных эффекторных цитокинов Т-клеток [15].

Для диагностических целей были разработаны различные тесты для оценки ключевых молекул, сигнальных путей и клеток, участвующих в IPEX или IPEX-подобных заболеваниях. Некоторые из них доступны клинически, другие – только в ходе исследовательских тестов. С одной стороны, уровни Treg и экспрессию FoxP3 можно оценить с помощью проточной цитометрии. В рамках этой методологии обычно клетки окрашивают CD4/CD25/CD127, чтобы оценить частоту или количество Treg-клеток.

Лечение пациентов с IPEX может быть особенно трудным, поскольку для контроля тяжелого аутоиммунитета часто требуется применение нескольких иммуносупрессивных препаратов в дополнение к поддерживающему лечению энтеропатии или заместительной гормональной терапии, например инсулину при СД1 [14]. Единственным доступным в настоящее время методом лечения IPEX является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), которая заменяет иммунную систему пациента и обеспечивает нормальное развитие донорских клеток tTreg [7].

Дефицит CD25. Дефицит CD25 представляет собой нарушение иммунной регуляции, протекающее в аутосомно-рецессивной форме, вызванное двуаллельными вариантами гена IL2RG, кодирующего IL-2R α , также известного как белок CD25. CD25 экспрессируется на высоких уровнях клетками CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg и играет ключевую роль в Treg, поскольку IL-2 (и CD25) необходим для продукции IL-10, как упоминалось выше. Пациенты с дефицитом CD25 имеют клинический фенотип, перекрывающийся фенотипом пациентов с IPEX, поэтому его называют IPEX-подобным заболеванием [8]. Как и IPEX, пациенты с дефицитом CD25 имеют тяжелую раннюю энтеропатию

и экзему. Другие часто наблюдаемые аутоиммунные проявления включают алопецию, тиреоидит и цитопению. Однако дефицит CD25 приводит к большей иммунной недостаточности, особенно к восприимчивости к тяжелым вирусным инфекциям, чем наблюдается при IPEX [22]. Другие менее распространенные проявления включают СД1, аутоиммунный тиреоидит, аутоиммунную нейтропению, алопецию и астму [24]. Таким образом, у пациентов с дефицитом CD25 наблюдается как иммунодефицит, так и аутоиммунитет.

Экспрессия CD25 на поверхности T-клеток полностью отсутствует у всех описанных пациентов, что позволяет поставить диагноз с помощью иммунологического фенотипирования с помощью проточной цитометрии. Кроме того, пациенты, как правило, имеют нормальное или сниженное количество FoxP3+, что затрудняет их выделение для функциональных исследований.

Дефицит CTLA4. Экспрессия CTLA4 с помощью Treg функционально осуществляет блокировку и/или трансэндоцитоз костимулирующего рецептора CD28 для CD80/CD86, экспрессируемого на антиген-презентирующих клетках [5]. Высокий уровень поверхностной экспрессии CTLA4 зависит от липосахарид-зависимого бежевого якоря (LRBA), мембранозакрепляющегося белка, который способствует рециркуляции мембранного CTLA4 из цитоплазматических пулов.

Гетерозиготность по мутациям с потерей функции CTLA4 и двуаллельным мутациям LRBA приводит к нарушению функции Treg и синдромному аутоиммунитету: либо гаплонедостаточности CTLA4 с аутоиммунной инфильтрацией, либо дефициту LRBA с продукцией аутоантител, дефектам Treg, аутоиммунной инфильтрации и энтеропатии. Как и при дефиците IPEX и CD25, у пациентов часто наблюдаются энтеропатия и цитопения, а также лимфаденопатия и гепатоспленомегалия из-за лимфопролиферации. Также могут быть легочные и неврологические патологии. У некоторых пациентов также развились злокачественные новообразования, включая лимфому, рак желудка [23].

Особенностью дефицита CTLA4 является неполная пенетрантность. Также существуют различия в тяжести заболевания у членов одной семьи, несущих идентичную мутацию, что затрудняет прогнозирование. Тем не менее ТГСК остается единственным потенциальным методом лечения [14].

Дефицит STAT3. Дефицит STAT3 – редкое аутосомно-рецессивное заболевание, сопровождающееся как выраженной задержкой роста, так и тяжелым иммунодефицитом. Синдром усиления функции STAT3 представляет собой полиорганное первичное нарушение иммунной регуляции, характеризующееся ранним началом аутоиммунитета. Нормальная транскрипция генов IL-2R α , FOXP3, Vcl-2 и гормона роста контролируется передачей сигналов STAT3. Иммунофенотипически у пациентов с дефицитом STAT3 наблюдается снижение количества Treg, низкая экспрессия FoxP3 и CD25 и нарушенная способность подавлять пролиферацию T-клеток. Кроме того, активация STAT3 увеличивает экспрессию и секрецию SOCS3 (белка, ингибирующего STAT5). Заболевание STAT3 может быть результатом измененной активации FoxP3 и дисбаланса поляризации клеток Treg/Th17, хотя неясно, какой фактор оказывает доминирующее действие [2].

В раннем возрасте у пациентов чаще всего наблюдаются лимфопролиферация, аутоиммунная цитопения и задержка роста. У пациентов выявляются тяжелая экзема, артрит, аутоиммунный тиреоидит и тромбоцитопеническая пурпура, которые,



как полагают, связаны с дисфункцией Treg, демонстрируя, что STAT3 играет решающую роль в поддержании и функционировании Treg [10].

Таким образом, количество Treg-клеток обычно снижается при STAT3-синдроме. Из-за широкой роли STAT3 в регуляции различных каскадов передачи сигналов, дифференцировки, роста и регенерации в различных тканях и типах клеток, представляет большой интерес изучение функции Treg у пациентов с иммунодефицитами, с нарушением регуляции иммунной системы.

Остальные нозологические группы заболеваний, которые не распознаются как трегопатии, включают гипертрофические заболевания, такие как гемофагоцитарный лимфогистоцитоз (ГЛГ), незлокачественная лимфолифопролиферация с аутоиммунитетом, воспалительные заболевания кишечника, связанные с IL-10, и другие нарушения, обусловленные моногенным аутоиммунитетом, но не имеющие центральной роли в Treg [21]. Хотя генетика этих и других патологий не влияет напрямую на биологию и функцию Treg, эти клетки могут быть заметно изменены прямым или косвенным образом. В данном обзоре представлена характеристика Treg у пациентов с ПИД.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение роли Treg у пациентов с первичными иммунодефицитами.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования явилась база данных пациентов с ПИД, состоявших на учете в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». Группу сравнения составили здоровые доноры, сопоставимые по возрасту и полу. Клинико-демографическая характеристика исследуемых групп представлена в табл. 1.

Метод проточной цитометрии. Субпопуляцию Treg определяли с применением панели моноклональных антител: CD45-APC-A750, CD3-KrO, CD4-FITC, CD25-APC,

Таблица 1

Клинико-демографическая характеристика пациентов с ПИД и группы сравнения, Me (25%÷75%)

Table 1

Clinical and demographic characteristics of patients with primary immunodeficiencies and control group, Me (25%÷75%)

Клинические группы пациентов	Количество, n	Возраст	Пол, м/ж
Пациенты с аутоиммунным лимфолифопролиферативным синдромом	8	11,0 [9,5÷13,2]	5/3
Пациенты с синдромом Вискотта – Олдрича	14	2,0 [1,0÷13,0]	14/-
Пациенты с синдромом активированной фосфоинозитид-3-киназы дельта	5	10 [6,0÷13,0]	2/3
Пациенты с синдромом Луи-Бар	16	8,0 [5,2÷11,2]	8/8
Пациенты с хронической гранулематозной болезнью	14	16,0 [12,5÷20,0]	22/1
Пациенты с синдромом Неймегена	23	5,5 [1,0÷8,5]	11/12
Пациенты с синдромом Ди Джорджи	32	3,0 [1,0÷4,5]	15/17
Здоровые доноры	129	9,0 [2,0÷12,0]	45/64

CD127-PE (Beckman Coulter, США) – и проточного цитометра Navios (Beckman Coulter, США). Для иммунофенотипирования 100 мкл цельной крови добавляли в пробирку с моноклональными антителами, перемешивали и инкубировали в течение 15 мин при температуре 18–25 °С. Эритроциты лизировали раствором VersaLyse (Beckman Coulter, США) в течение 10 мин. Результаты регистрировали на проточном цитометре на 10000 T-лимфоцитов.

Статистический анализ. Статистическую обработку данных выполняли в программе STATISTICA 10.0. Сравнение независимых групп проводили с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни. За уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Количественная характеристика Treg у пациентов с ПИД. Для характеристики лимфоидных Treg-клеток, циркулирующих в периферической крови пациентов с ПИД и группы сравнения, исследовано абсолютное и относительное содержание Treg. Сравнительная характеристика абсолютного и относительного содержания Treg в исследуемых группах представлена в табл. 2.

Показано достоверное снижение относительного и абсолютного количества Treg в периферической крови пациентов с ПИД по сравнению с контрольной группой: с синдромом активированной фосфоинозитид-3-киназы дельта, синдромом Луи-Бар и синдромом Неймегена, что подразумевает участие в иммунопатогенезе данной субпопуляции клеток, и не установлено статистической значимости у пациентов с хронической гранулематозной болезнью, синдромом Ди Джорджи, аутоиммунным

Таблица 2

Иммунологические показатели Treg в периферической крови у пациентов с первичными иммунодефицитами и группы сравнения, $Me \pm$ стандартное отклонение (10%÷90%)

Table 2

Immunological parameters of Treg in peripheral blood in patients with primary immunodeficiencies and control group, $Me \pm$ standard deviation (10%÷90%)

Клинические группы пациентов	Treg, %		p	Treg, кл/мкл		p
	Данные пациентов	Группа сравнения		Данные пациентов	Группа сравнения	
Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром	3,6±2,7 [2,8÷7,0]	7,1±2,1 [4,7÷9,9]	p=0,1	29,80±10,0 [21,9÷37,9]	61,0±53,3 [31,1÷177,6]	p=0,06
Синдром Вискотта – Олдрича	4,92±2,7 [1,1÷7,0]	7,1±2,1 [4,7÷9,9]	p=0,06	47,31±54,0 [8,2÷121,5]	61,0±53,3 [31,1÷177,6]	p=0,3
Синдром активированной фосфоинозитид-3-киназы дельта	3,8±3,3 [0,9÷7,5]	7,1±2,1 [4,7÷9,9]	p=0,03	12,0±18,9 [2,3÷40,0]	61,0±53,3 [31,1÷177,6]	p=0,01
Синдром Луи-Бар	5,14±2,4 [2,5÷6,9]	7,1±2,1 [4,7÷9,9]	p=0,06	19,8±6,2 [11,3÷21,1]	61,0±53,3 [31,1÷177,6]	p=0,009
Хроническая гранулематозная болезнь	5,05±3,1 [1,2÷9,1]	7,1±2,1 [4,7÷9,9]	p=0,05	41,91±35,6 [10,0÷83,0]	61,0±53,3 [31,1÷177,6]	p=0,09
Синдром Неймегена	3,83±3,9 [1,6÷9,6]	7,1±2,1 [4,7÷9,9]	p=0,01	18,51±14,5 [8,0÷36,7]	61,0±53,3 [31,1÷177,6]	p=0,005
Синдром Ди Джорджи	5,1±2,4 [3,9÷8,2]	7,1±2,1 [4,7÷9,9]	p=0,2	28,21±32,7 [23,1÷72,6]	61,0±53,3 [31,1÷177,6]	p=0,1

Примечание: * p – относительно показателей контрольной группы.



лимфопролиферативным синдромом и синдромом Вискотта – Олдрича, что требует более глубокого молекулярного понимания.

Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром. В случае с аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом (ALPS) основной генетический дефект включает компоненты апоптотического пути Fas-FasL. Существует ряд биомаркеров, связанных с ALPS, таких как повышенные уровни CD3⁺TCRαβ⁺CD4⁻CD8⁻ двойных отрицательных клеток, а также повышенные уровни IL-10 в плазме, растворимого FasL (sFasL) [26].

Ранее было описано, что у пациентов с АЛПС доля Treg, определяемая как CD25^{hi}CD127^{low}, была ниже по сравнению со здоровым контролем. Однако супрессивная способность пролиферации Т-клеток не пострадала. Это исследование предполагает, что чрезмерная пролиферация Т-клеток при АЛПС не может быть связана с дефектом Treg [25]. Однако, учитывая скудность информации о Treg в ALPS, необходимы дальнейшие исследования.

В нашем исследовании мы не выявили корреляции к снижению Treg у пациентов с АЛПС, которое могло бы привести к ослаблению иммунорегуляторных функций. Тенденция к снижению может содействовать возрастающей частоте аутоиммунных проявлений и лимфопролиферативных заболеваний, что является одним из основных клинических признаков АЛПС. Дефицит Т-регуляторных клеток, приводящий к нарушению иммунного толеранса и индукции аутоиммунных реакций, подчеркивает их ключевую роль в патогенезе аутоиммунных нарушений. Важны дальнейшие исследования механизмов регуляции иммунной системы для глубокого понимания этиопатогенетических факторов АЛПС и разработки новых подходов к диагностике и мониторингу данного состояния [22].

Синдром Вискотта – Олдрича. Синдром Вискотта – Олдрича представляет собой X-сцепленный ПИД, характеризующийся дисфункцией лимфоцитов, приводящей к оппортунистическим вирусным и бактериальным инфекциям, тромбоцитопении, экземе, аутоиммунным нарушениям и раку. В гене, кодирующем белок WAS (WASp), описано более 200 мутаций. Мутации, приводящие к потере экспрессии WASp, коррелируют с более тяжелым фенотипом заболевания. Его дефицит в основном связан с дефектами Т-лимфоцитов [24]. В частности, лимфоциты не способны реорганизовать актиновый цитоскелет в ответ на вовлечение Т-клеточного рецептора (TCR), что приводит к неполной активации клеток и снижению пролиферации и выживания клеток. Хотя не было показано, что WASP играет решающую роль в производстве Treg в тимусе, он необходим для экспансии и выживания Treg на периферии.

Дефицит WASp приводит к снижению процента периферических Treg (хотя экспрессия FoxP3 сохраняется) с сильным влиянием на активированный Treg, о чем свидетельствует снижение маркеров активации и миграционных рецепторов [23]. С точки зрения клинических последствий изменения в Treg могут коррелировать с высокой частотой аутоиммунитета у пациентов с WASp, необходимы дополнительные исследования для улучшения понимания этой корреляции.

Синдром активированной фосфоинозитид-3-киназы дельта. Синдром активированной фосфоинозитид-3-киназы дельта (APDS) – редкий иммунодефицит, который влияет на работу всей иммунной системы. Наиболее распространенными симптомами APDS являются частые инфекции верхних дыхательных путей, инфекции носовых пазух, ушные инфекции, бронхит и пневмония (инфекция легких). Пер-

вые симптомы проявляются в раннем детстве, но могут появиться в любом возрасте. Другие симптомы включают раздражение желудочно-кишечного тракта, отек лимфатических узлов, увеличение печени и селезенки, а также повышенный риск развития лимфомы. Со временем частые инфекции ушей и дыхательных путей могут привести к необратимой потере слуха и рубцеванию легких (бронхоэктазам) [2].

Существует 2 типа APDS: APDS1 возникает из-за изменений в гене PIK3CD, а APDS2 – из-за изменений в гене PIK3R1. Оба имеют схожие симптомы и наследуются в семьях по аутосомно-доминантному типу. Лечение APDS направлено на устранение симптомов, предотвращение инфекций и снижение воспаления. Сюда входят антибиотики для лечения инфекций, противовоспалительные препараты, заместительная терапия иммуноглобулином и трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК).

В ряде исследований установлено, что на фоне APDS выявлено закономерное снижение Treg. Наблюдалась потеря веса и признаки хронического воспаления, о чем свидетельствует увеличение эффекторных CD4⁺ и CD8⁺ T-клеток с усиленной секрецией IFN- γ . Тем самым это имеет решающее значение для гомеостаза и функции Treg, предполагая, что передача сигналов в Treg может быть терапевтически нацелена на усиление или ингибирование иммунных ответов [27].

Синдром Луи-Бар. Синдром Луи-Бар (атаксия-телеангиэктазия (АТ)) – аутосомно-рецессивный ПИД, который обычно проявляется телеангиэктазиями, прогрессирующей мозжечковой атаксией, рецидивирующими инфекциями дыхательной системы, увеличением частоты злокачественных новообразований, гиперчувствительностью к рентгеновским лучам. Глубокая дисфункция как гуморальной, так и клеточно-опосредованной иммунной системы проявляется в низких уровнях IgA, незрелости тимуса, плохой реакции на патогены и рецидивирующие инфекции [23].

Высокий риск злокачественных новообразований может быть обусловлен плохим иммунным надзором, связанным со снижением циркуляции Treg в периферической крови. Наш анализ подтверждает сниженную супрессивную способность Treg с уменьшением количества клеток, что приводит к снижению стабильности FoxP3 и даже предрасположенности к секреции IFN γ , что изменяет иммунный ответ в сторону провоспалительного каскада.

Хроническая гранулематозная болезнь. Хроническая гранулематозная болезнь (ХГБ) – это редкий ПИД, поражающий в основном фагоциты, который характеризуется повышенной восприимчивостью к тяжелым и рецидивирующим бактериальным и грибковым инфекциям вместе с развитием гранулем. В ходе исследования выявлена незначительная тенденция к снижению процента Treg у пациентов с ХГБ по сравнению со здоровыми донорами, что дополняет клиническую картину о низкой регуляции иммунной системы в тканях на фоне сниженной дифференцировки T-клеток, способствуя высокому распространению воспаления у пациентов с ХГБ [21].

Полученные данные согласуются с рядом авторов, так, Kraaij et al. наблюдали сниженное количество клеток FoxP3⁺ при культивировании *in vitro* среди клеток CD4⁺CD25⁺Treg у пациентов с ХГБ, демонстрируя выраженные проявления аутоиммунитета, что может отражать необходимость дополнительной активации Treg для уменьшения симптомов аутовоспаления.

Синдром Неймегена. Синдром Неймегена (англ. Nijmegen breakage syndrome – NBS) является редким аутосомно-рецессивным наследственным синдромом хромосомной нестабильности, при котором наблюдаются микроцефалия, иммунодефицит



и склонность к злокачественным новообразованиям. Синдром Неймегена вызван мутациями в гене NBN, который участвует в клеточном ответе на повреждения ДНК [26].

В ряде исследований показано, что пролиферация эффекторных Т-клеток значительно снизила прогрессирование клинической симптоматики, что указывает на усиление супрессивной способности Treg. В частности, у пациентов наблюдался частичный подъем иммунного ответа посредством пролиферации CD4+CD25+Treg. Наши данные, указывающие на снижение этой субпопуляции, позволяют предполагать, что усиление пролиферации может способствовать снижению развития аутоиммунных проявлений.

Синдром Ди Джорджи. Это редкое врожденное заболевание, генетической причиной синдрома является делеция центрального участка длинного плеча 22-й хромосомы (22q11.2). Характеризуется агенезией или дисгенезом паращитовидных (околощитовидных) желез, аплазией тимуса (вилочковой железы), приводящей к резкому снижению популяции Т-лимфоцитов и иммунологической недостаточности, а также врожденными аномалиями крупных сосудов (дефекты аорты, тетрада Фалло).

Нарушенная пролиферация общего пула Т-клеточного звена иммунитета, безусловно, затрагивает и Treg, снижая их количественный и качественный потенциал. У пациентов наблюдается вторичная симптоматика приобретенных аутовоспалительных синдромов [20]. Наши результаты не предоставили доказательства дефекта развития и функции Treg, несмотря на нарушения как центральной, так и периферической толерантности.

Перспективы дальнейшего исследования. Диагностика и лечение трегопатий создают проблемы из-за слияния перекрывающихся и мультисистемных проявлений и их различной генетической этиологии. Кроме того, существует множество вариантов лечения иммунной дисрегуляции при ПИД в зависимости от конкретного типа, тяжести и пути развития заболевания. К ним относятся системные иммунодепрессанты, заместительная ферментная терапия, малые молекулы, биологическая терапия (например, моноклональные антитела) и адаптивная клеточная терапия, такая как генная терапия и в ближайшем будущем – клеточная терапия [28].

Характеристика Treg с помощью проточной цитометрии также может быть не такой простой. Во-первых, как упоминалось ранее, для Treg не существует конкретного уникального маркера. Во-вторых, относительно низкая экспрессия FoxP3 требует использования меченых флуорохромом моноклональных антител достаточной интенсивности для обнаружения [29]. Таким образом, отдельная идентификация покоящихся, наивных и активированных Treg может быть достигнута за счет относительно высокой экспрессии FoxP3 и дополнительных маркеров. Однако факторы транскрипции не подходят для выделения жизнеспособных клеток и требуют больше обработки образцов, времени и ресурсов, что усиливает очевидную необходимость идентификации уникальных поверхностных маркеров для характеристики Treg.

Сложность характеристики Treg возрастает, если необходимо изучить Treg с фенотипом CD8⁺, учитывая их недавнюю роль в вирусных инфекциях и онкогенезе. CD8⁺Treg участвуют в исследованиях отторжения трансплантата почки и кишечной реакции «трансплантат против хозяина». Тем не менее необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить различия между этими типами клеток, что представляет собой хорошую дальнейшую перспективу.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые в Республике Беларусь на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» проанализированы результаты исследований абсолютного и относительного содержания Treg у пациентов с врожденной иммунной дисрегуляцией и редкими формами аутовоспалительных синдромов. Treg выполняют функцию завершения адаптивного иммунного ответа и обеспечивают толерантность к собственным антигенам. Эта группа клеток представлена разными субпопуляциями и присутствует в организме в течение всей жизни. Однако сегодня еще нет ясного понимания того, каким образом данная группа клеток участвует в иммунологическом каскаде. В данном обзоре выявлено достоверное снижение относительного и абсолютного количества Treg в периферической крови пациентов с ПИД: с синдромом активированной фосфоинозитид-3-киназы дельта (APDS), синдромом Луи-Бар и синдромом Неймегена – и не установлено статистической значимости у пациентов с хронической гранулематозной болезнью, синдромом Ди Джорджи, аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом (ALPS) и синдромом Вискотта – Олдрича. Выявленная тенденция коррелирует с тяжестью заболеваний и позволяет использовать эти фенотипические и функциональные изменения в качестве диагностического и прогностического маркера развития аутоиммунного воспаления, а сами Treg рассматривать как терапевтическую мишень при разработке новых протоколов патогенетической терапии. Следовательно, необходимо постоянное обновление и интеграция последней информации, чтобы предложить ответ на клинические потребности, которые возникают у пациентов с трегопатиями, а также при других ПИД и аллергиях, чтобы улучшить будущие методы лечения, направленные на восстановление функциональности Treg. В целом изучение минорных субпопуляций лимфоцитов продолжает открывать новые горизонты для медицинской науки и имеет потенциал привести к значительным прорывам в терапевтическом подходе.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Chatila T.A. Role of regulatory T cells in human diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2005;116:949–959. doi: 10.1016/j.jaci.2005.08.047
2. Fontenot J.D., Gavin M.A., Rudensky A.Y., et al. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunology*. 2003;4:330–336. doi: 10.1038/ni904
3. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunology*. 2005;6:345–352. doi: 10.1038/ni1178
4. Fontenot J.D., Rudensky A.Y. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunology*. 2005;6:331–337. doi: 10.1038/ni1179
5. Hsieh C.S., Liang Y., Tzysnik A.J., et al. Recognition of the peripheral self by naturally arising CD25+CD4+ T cell receptors. *Immunity*. 2004;21:267–277. doi: 10.1126/science.1079490
6. Fantini M.C., Becker C., Monteleone G., et al. Cutting Edge: TGF- β Induces a Regulatory Phenotype in CD4+CD25- T Cells through Foxp3 Induction and Down-Regulation of Smad7. *J Immunology*. 2004;172:5149–5153. doi: 10.4049/jimmunol.172.9.5149
7. Chen W., Jin W., Hardegen N., et al. Conversion of Peripheral CD4+CD25- Naive T Cells to CD4+CD25+ Regulatory T Cells by TGF- β Induction of Transcription Factor Foxp3. *J Exp Med*. 2003;198:1875–1886. doi: 10.1084/jem.20030152
8. Hori S., Nomura T., Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*. 2003;299:1057–1061. doi: 10.1126/science.1079490
9. Kretschmer K., Apostolou I., Hawiger D., et al. Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen. *Nat Immunology*. 2005;6:1219–1227. doi: 10.1038/ni1265
10. Haribhai D., Williams J.B., Jia S., et al. A Requisite Role for Induced Regulatory T Cells in Tolerance Based on Expanding Antigen Receptor Diversity. *Immunity*. 2011;35(1):109–22. doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.029
11. Haribhai D., Lin W., Edwards B., et al. A central role for induced regulatory T cells in tolerance induction in experimental colitis. *J Immunology*. 2009;182:3461–3468. doi: 10.4049/jimmunol.0802535



12. Gavin M.A., Torgerson T.R., Houston E., et al. Single-cell analysis of normal and FOXP3-mutant human T cells: FOXP3 expression without regulatory T cell development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:6659–6664. doi: 10.1073/pnas.0509484103
13. Rubtsov Y.P., Nieuwe R.E., Josefowicz S., et al. Stability of the regulatory T cell lineage in vivo. *Science*. 2010;329:1667–1671. doi: 10.1126/science.1191996
14. Zhou X., Bailey-Bucktrout S.L., Jeker L.T. et al. Instability of the transcription factor Foxp3 leads to the generation of pathogenic memory T cells in vivo. *Nat Immunology*. 2009;10:1000–1007. doi: 10.1038/ni.1774
15. Barron L., Dooms H., Hoyer K.K., et al. Cutting edge: mechanisms of IL-2-dependent maintenance of functional regulatory T cells. *J Immunology*. 2010;185:6426–6430. doi: 10.4049/jimmunol.0903940
16. Caudy A.A., Reddy S.T., Chatila T., et al. CD25 deficiency causes an immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked-like syndrome, and defective IL-10 expression from CD4 lymphocytes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2007;119:482–487. doi: 10.1016/j.jaci.2006.10.007
17. Paust S., Lu L., McCarty N., et al. Engagement of B7 on effector T cells by regulatory T cells prevents autoimmune disease. *PNAS*. 2004;101:10398–10403. doi: 10.1073/pnas.0403342101
18. Mellor A.L., Chandler P., Baban B., et al. Specific subsets of murine dendritic cells acquire potent T cell regulatory functions following CTLA4-mediated induction of indoleamine 2,3 dioxygenase. *J Immunology*. 2004;16:1391–1401. doi: 10.1093/intimm/dxh140
19. Saito M., Nagasawa M., Takada H., et al. Defective IL-10 signaling in hyper-IgE syndrome results in impaired generation of tolerogenic dendritic cells and induced regulatory T cells. *J Exp Med*. 2011;208:235–249. doi: 10.1084/jem.20100799
20. Chaudhry A., Samstein R.M., Treuting P., et al. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation. *Immunity*. 2011;34:566–578. doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.018
21. Nakamura K., Kitani A., Strober W., et al. Cell Contact-dependent Immunosuppression by CD4+CD25+ Regulatory T Cells Is Mediated by Cell Surface-bound Transforming Growth Factor. *J Exp Med*. 2011;194:629–644. doi: 10.1084/jem.194.5.629
22. Deaglio S., Dwyer K.M., Gao W., et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med*. 2007;204:1257–1265. doi: 10.1084/jem.20062512
23. Grossman W.J., Verbsky J.W., Barchet W., et al. Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. *Immunity*. 2004;21:589–601. doi: 10.1016/j.immuni.2004.09.002
24. Collison L.W., Workman C.J., Kuo T.T., et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*. 2007;450:566–569. doi: 10.1038/nature06306
25. Chatila T.A., Blaeser F., Ho N., et al. JM2, encoding a fork head-related protein, is mutated in X-linked autoimmunity-allergic dysregulation syndrome. *Journal of Clinical Investigation*. 2000;106:75–81. doi: 10.1172/JC111679
26. Bennett C.L., Christie J., Ramsdell F., et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nature Genetics*. 2001;27:20–21. doi: 10.1038/83713
27. Brunkow M.E., Jeffery E.W., Hjerrild K.A., et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurf, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nature Genetics*. 2001;27:68–73. doi: 10.1038/83784
28. Akdis M., Verhagen J., Taylor A., et al. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. *J Exp Med*. 2004;196:1567–1575. doi: 10.1084/jem.20032058
29. Sharfe N., Dadi H.K., Shahar M., et al. Human immune disorder arising from mutation of the alpha chain of the interleukin-2 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94:3168–3171. doi: 10.1073/pnas.94.7.3168
30. McMurchy A.N., Gillies J., Allan S.E., et al. Point mutants of forkhead box P3 that cause immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked have diverse abilities to reprogram T cells into regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126:1242–1251. doi: 10.1016/j.jaci.2010.09.001



Чебыкина Д.А.✉, Моторин Д.В., Семенова Н.Ю., Мотыко Е.В., Кириенко А.Н.,
Кустова Д.В., Кувшинов А.Ю., Сидоркевич С.В., Мартынкевич И.С.
Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Раскрывая новые парадигмы: обзор патогенетических механизмов и перспективных методов лечения множественной миеломы

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: редактирование, сбор материала, написание текста – Чебыкина Д.А.; концепция, редактирование – Мартынкевич И.С., Сидоркевич С.В., Моторин Д.В., Семенова Н.Ю.; редактирование, написание текста – Мотыко Е.В., Кириенко А.Н., Кустова Д.В., Кувшинов А.Ю.

Подана: 28.09.2024

Принята: 12.11.2024

Контакты: chebykina@niigt.ru

Резюме

Множественная миелома остается сложным гематологическим заболеванием, требующим постоянного изучения его биологии и поиска новых терапевтических подходов. Несмотря на внедрение в клиническую практику различных классов лекарственных средств, таких как иммуномодулирующие препараты, ингибиторы протеасом и моноклональные антитела, множественная миелома по-прежнему включена в группу хронических неизлечимых заболеваний.

Цель настоящей работы – предоставить всесторонний обзор патогенетических механизмов, лежащих в основе лекарственной резистентности, и рассмотреть возможные опции персонализированной терапии. Путем подробного анализа данных клинических исследований последних лет оценить эффективность и возможность применения в клинической практике развивающихся методов лечения.

Ключевые слова: множественная миелома, аберрантные сигнальные пути, молекулярный ландшафт, полногеномное секвенирование



Chebykina D. ✉, Motorin D., Semenova N., Motyko E., Kiriyyenko A., Kustova D., Kuvshinov A., Sidorkevich S., Martynkevich I.
Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of Federal Medical and Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

Uncovering New Paradigms: a Review of Pathogenetic Mechanisms and Promising Treatments for Multiple Myeloma

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: collecting material, processing, writing text – Chebykina D.; the concept and editing – Martynkevich I., Sidorkevich S., Motorin D., Semenova N.; editing, writing text – Motyko E., Kiriyyenko A., Kustova D., Kuvshinov A.

Submitted: 28.09.2024

Accepted: 12.11.2024

Contacts: chebykina@niigt.ru

Abstract

Multiple myeloma (MM) remains a complex hematological disease that requires constant study of its biology and the search for new therapeutic approaches. Despite the introduction into clinical practice of various classes of drugs, such as immunomodulatory drugs, proteasome inhibitors and monoclonal antibodies, MM is still included in the group of chronic incurable diseases.

The purpose of this work is to provide a comprehensive overview of the pathogenetic mechanisms underlying drug resistance and to consider possible options for personalized therapy. Through a detailed analysis of data from clinical trials in recent years, to evaluate the effectiveness and feasibility of developing treatment methods in clinical practice.

Keywords: multiple myeloma, aberrant signaling pathways, molecular landscape, genome-wide sequencing

■ ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) – это неизлечимое В-клеточное лимфопролиферативное заболевание, при котором происходит мультифокальная пролиферация зрелых опухолевых плазматических клеток (ПК), продуцирующих моноклональный иммуноглобулин [1].

За последние десятилетия методы диагностики генома претерпели настоящую эволюцию: от анализа хромосомных aberrаций до полногеномного секвенирования, углубив наши знания о клеточном происхождении ММ, ее микроокружении, молекулярном ландшафте. Идентификация мутаций и aberrантных сигнальных путей, способствующих прогрессии ММ и возникновению лекарственной резистентности, создает конкретные мишени для таргетной терапии. В клинической практике все чаще появляются новые лекарственные препараты и их комбинации, разработанные на основе лабораторных данных, полученных в результате расширенных молекулярно-генетических исследований с использованием технологии секвенирования следующего поколения (NGS).

■ ПАТОГЕНЕЗ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

Злокачественная трансформация В-лимфоцитов при ММ происходит в терминальных центрах периферических лимфоидных органов после соматических гипермутаций реаранжированных генов иммуноглобулинов и изотипического переключения антител. Источником плазматических клеток при ММ являются активированные В-клетки памяти, либо плазмобласты, образовавшиеся в периферических лимфоидных органах в период формирования вторичного Т-зависимого ответа [2]. Дифференцировка В-клеток-предшественниц в зрелые клетки может быть охарактеризована не только чередой перестроек сегментов генов иммуноглобулинов, но и постепенным приобретением и утратой поверхностных маркеров, которые коррелируют с этапом клеточной дифференцировки [3, 4]. Уникальный фенотипический профиль соответствует каждой из стадий (рис. 1). Говоря об основных фенотипических характеристиках созревания ПК, можно выделить поэтапную потерю экспрессии В-ассоциированных маркеров; усиление экспрессии CD38 и дифференцировочного антигена CD38; снижение уровня экспрессии CD45. В процессе созревания ПК усиливается экспрессия антигенов CD38 и CD138. Обнаружение выраженной совместной экспрессии данных маркеров позволяет надежно верифицировать ПК финальных стадий дифференцировки. Именно синдекан-1(CD138), относящийся к семейству гепарансульфатов, является дифференцировочным маркером ПК. Молекула CD138 выполняет функцию корцептора к различным ростовым факторам, участвует в адгезии ПК к компонентам стромального микроокружения посредством взаимодействий «клетка – клетка» и «клетка – матрикс» [5].

Развитию клинической картины ММ предшествует сложный многоступенчатый процесс генетической перестройки ПК от пролиферирующего клона до образования злокачественного пула В-лимфоцитов. В-клеточная лимфома с плазматической дифференцировкой, моноклональная гаммапатия неустановленного генеза (МГНГ), макроглобулинемия Вальденстрема и ММ – группа пролиферативных заболеваний, каждое из которых связано с определенным этапом дифференцировки ПК [6, 7]. Чаще всего развитие ММ ассоциировано с предшествующей трансформацией из МГНГ ввиду хронической антигенной стимуляции различной природы [8]. Уже на стадии МГНГ можно выявить первичные молекулярные события, такие как транслокации с участием генов, кодирующих тяжелые цепи иммуноглобулинов (IGH),

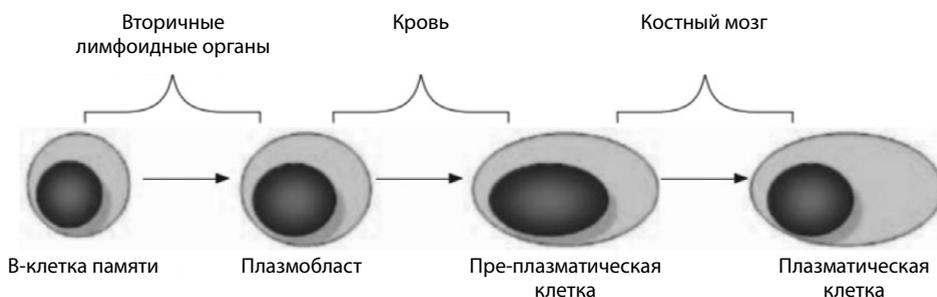


Рис. 1. Стадии созревания ПК в норме
Fig. 1. The stages of PC maturation are normal



изменения числа хромосом (чаще всего анеуплоидия), которые в итоге приведут к развитию симптоматического течения заболевания [10]. Дополнительные генетические aberrации способствуют трансформации МГНГ в ММ, а риск прогрессирования до ММ составляет около 1% в год [8]. Следует отметить, что риск прогрессирования тлеющей миеломы в активную ММ составляет около 10% в год в течение первых 5 лет, 3% – в течение следующих 5 лет и 1% – через 10 лет после первоначального диагноза. Таким образом, ключевой патогенетический механизм заболевания заключается не в мутациях одного гена, а именно в нарушении систем регуляции онкогенных путей. Это наблюдение привело к выводу, что существует два основных механизма прогрессирования миеломы. В модели «статического прогрессирования» опухолевая популяция уже определена на стадии тлеющей ММ, и развитие ММ происходит за счет непрерывной пролиферации этого клона. В модели «спонтанной эволюции» заболевание прогрессирует благодаря клональной эволюции с последующим приобретением дополнительных транслокаций, изменений в числе копий генов и мутаций [11]. Дополнительные генетические события, которые происходят уже в злокачественном клоне зрелых ПК, включают изменения в числе копий генов, аномальное метилирование и генные мутации, которые усиливают опухолевую прогрессию.

■ МИКРООКРУЖЕНИЕ

Важную роль в патогенезе ММ играют не только генетические события, но и взаимодействия миеломных клеток с компонентами костномозгового микроокружения. Микроокружение костного мозга (КМ) является источником цитокинов, факторов роста, необходимых для пролиферации, выживания и дифференцировки злокачественных клеток. Компонентами костномозгового микроокружения являются белковые молекулы (ламинин, коллаген, фибронектин, остеопонтин) и различные клеточные элементы, такие как эритроциты, гемопоэтические стволовые клетки, эндотелиальные клетки костного мозга, остеокласты, остеобласты и иммунные клетки [12]. Все биологические процессы, активные в КМ (ангиогенез, ингибирование иммунных клеток, активация остеокластов и т. д.), влияют на прогрессирование ММ и формирование лекарственной резистентности. Взаимодействие между ПК миеломы и стромальными клетками КМ, остеокластами, остеобластами и сосудистыми элементами способствует развитию лекарственной резистентности защитного эндоплазматического ретикулума к таким препаратам, как мелфалан, бортезомиб.

Сигнальные системы, представленные в КМ, активно функционируют как в клетках ММ, так и в стромальном микроокружении. Пусковым сигналом для их работы является взаимодействие факторов роста и цитокинов с клеточными рецепторами, а также активация молекул клеточной адгезии. Конечным этапом функционирования систем является транскрипция генов, кодирующих различные белки, такие как циклин D, циклинзависимые киназы, антиапоптотические белки и другие. В случае ММ наблюдаются выраженные проявления гиперактивации пролиферативных антиапоптотических сигнальных систем в ПК. Особенно важными в патогенезе ММ являются непрерывно активные киназы, такие как PI3K/AKT, MAPK (RAS, RAF, MEK, ERK), JAK/STAT3, и транскрипционные факторы, которые управляют клеточным циклом, обеспечивают резистентность к лекарственным препаратам и другие клеточные функции [13].

Клетки стромы КМ достаточно оснащены разными видами белков адгезии, компонентами внеклеточного матрикса, рядом цитокинов (IGF-1, BAF, FGF и SDF-1), хемокином CXCL-12, которые способствуют гомотипическим и гетеротипическим контактам, обеспечивая площадку крепления клеток, избирательно подвергаясь воздействию локально высвобождаемых факторов роста [14]. Взаимодействие этих молекул адгезии приводит к усилению регуляции нескольких внутриклеточных сигнальных путей; например, PI3K, STAT3, NF- κ B и MAPK, что ведет к секреции цитокинов, активации остеокластов, уменьшению остеобластов и усилению роста и пролиферации клеток ММ [15]. Эти процессы вызывают ангиогенез, литические поражения костей и лекарственную устойчивость. Дисрегуляция сигнальных путей при патологических состояниях связана с клетками КМ. Эти клетки, вызывая индукцию и активацию сигнальных путей, способствуют прогрессии заболевания, формированию лекарственной резистентности (рис. 2) [16].

Злокачественные клетки влияют на функциональность микроокружения КМ. Клеточный цикл и антиапоптотические пути, такие как JAK/STAT3, активируются за счет взаимодействия ММ-клеток с клетками стромального микроокружения путем адгезии. Эта взаимосвязь клеток вызывает дисрегуляцию Bcl-xL (B-cell lymphoma-extralarge) и Mcl-1 (myeloid cell leukemia1), которые являются антиапоптотическими белками. Злокачественные плазматические клетки также претерпевают метаболические изменения, что влияет на несколько метаболических путей и приводит к лекарственной устойчивости при ММ [17].

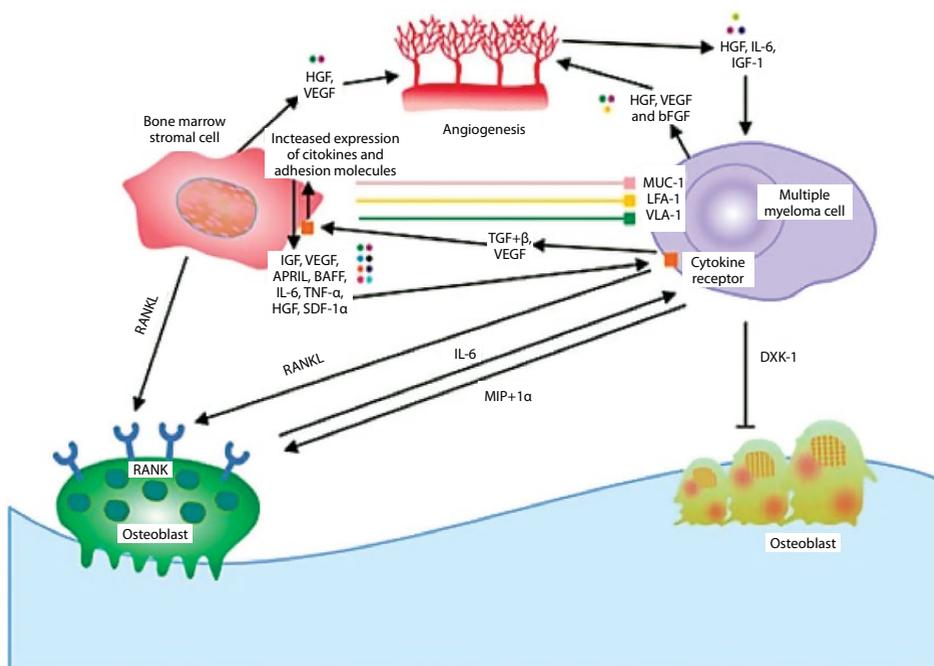


Рис. 2. Сигнальные и клеточные взаимодействия между клетками ММ и микроокружением КМ
Fig. 2. Signaling and cellular interactions between MM cells and the BM microenvironment



Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) костного мозга – негемопоэтические мультипотентные клетки-предшественники, способные дифференцироваться во множество гистотипов (фибробластов, адипоцитов, хондроцитов и остеобластов) и мигрировать к участкам опухоли. Дифференцировочный потенциал может меняться в процессе патогенеза ММ под влиянием цитокинов, клеточных сигналов, передающихся посредством экзосом (амфирегулин), и эпигенетических путей регуляции (процессы метилирования) [18].

Роль МСК в поддержании выживания и роста клеток ММ хорошо известна. Прямая адгезия к МСК представляет собой сильный стимул для активации пути NF-κB в клетках ММ. ПК активно экспрессируют на своей поверхности функционально-ассоциированный антиген-1 лимфоцитов (LFA-1) и интегриновый рецептор (VLA-4), которые связывают молекулу межклеточной адгезии 1 (ICAM-1) и молекулу сосудистой адгезии 1 (VCAM-1) на МСК. Эти адгезивные контакты запускают путь NF-κB в МСК, приводящий к транскрипции и секреции различных цитокинов, включая IL-6, основной фактор роста ММ-клеток [19]. Кроме того, в среде КМ некоторые цитокины могут действовать как аутокринные или паракринные факторы, способствующие выживанию клеток ММ. В качестве примера можно привести лиганды семейства фактора некроза опухоли (TNF): лиганд, индуцирующий пролиферацию (APRIL), и фактор активации В-клеток (BAFF), которые в избытке присутствуют в МСК ММ и остеокластах. Активация этих молекул рецепторами BAFFR и TACI/BCMA способствует клеточной адгезии и выживанию клеток ММ за счет передачи сигналов NF-κB и повышения регуляции антиапоптотических факторов MCL-1 и BCL-2 [20]. Все упомянутые выше мишени могут быть потенциально ценными для иммунотерапии пациентов с ММ. Например, рецептором для APRIL является антиген созревания В-клеток (BCMA) – трансмембранный рецептор, необходимый для созревания В-клеток, который экспрессируется на злокачественных плазматических клетках, функционирует как опухолевый маркер при ММ и обычно ассоциируется с худшим прогнозом. На сегодняшний день BCMA является мишенью для CAR-T-терапии, биспецифических антител и иммуноконъюгатов. Путь BCMA сильно зависит от APRIL и BAFF, повышая выживаемость клеток ММ и устойчивость к воздействию препаратов. Кроме того, формированию лекарственной устойчивости способствует снижение экспрессии BCMA в ходе терапии или мутация в гене BCMA, размещенном в локусе 16p [21].

Одним из главных клинических осложнений ММ является остеолитический процесс, который позволяет опухолевым клеткам накапливаться в КМ. Остеолитические поражения возникают из-за повышенной резорбции кости параллельно с уменьшением остеогенеза. На молекулярном уровне ключевыми медиаторами этих процессов являются лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL), остеопротегерин (OPG) (RANKL/OPG) и сигнальный путь Dickkopf-1 (Wnt/DKK1). Белки Wnt способствуют дифференцировке остеобластов, в то время как DKK1 ингибирует остеобластогенез. Усиленный остеокластогенез при ММ в основном напрямую опосредуют МСК, продуцируя высокие уровни RANKL и IL-6 [22]. Цитокин IL-6 опосредованно обеспечивает поддержку опухолевого роста через сигнальный путь JAK/STAT3 и стимулирует экспрессию антиапоптотических факторов Mcl-1 и Bcl-XL [23].

Анализ транскриптома показал существование миелом-специфических воспалительных МСК, характеризующихся обогащенной экспрессией в передаче сигналов TNF-α и IL-1β. Следует отметить, что NF-κB является основным нисходящим

эффектором этих воспалительных путей, что указывает на способность этих факторов транскрипции регулировать активность воспалительных МСК при ММ. Благодаря продукции активных форм кислорода и азота в рамках воспалительного процесса, клетки микроокружения КМ косвенно поддерживают генетическую нестабильность, появление новых мутаций и, как следствие, способствуют прогрессии ММ. Воспаление поддерживает гипоксическое микроокружение опухоли, а индуцируемый гипоксией фактор (HIF) активирует ангиогенез [24]. Говоря о роли гипоксии в метаболизме микроокружения КМ, следует подчеркнуть, что ПК находятся в эндостальной нише, где гипоксическая среда вызывает изменения в биодоступности метаболитов, таких как аминокислоты, жирные кислоты и нуклеотиды, и индуцирует усиленное выделение экзосом. Среди значительных трансформаций в метаболизме клеток миеломы в ответ на гипоксию можно выделить изменения, влияющие на уровни гексокиназы-2 (HK-2) и лактатдегидрогеназы А (LDHA). Выработка указанных метаболитов связана с развитием лекарственной устойчивости к бортезомибу. Согласно имеющимся результатам исследований другой маркер гипоксии при ММ KDM3A индуцирует длинную некодирующую РНК (MALAT1), которая, в свою очередь, обуславливает гликолиз, приводящий к пролиферации ПК [25].

Помимо влияния микроокружения КМ на выживаемость и рост клеток ММ, нельзя не отметить роль МСК в формировании резистентности к ключевым на сегодняшний день классам препаратов. Так, прямые адгезивные контакты с МСК и рядом цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 и BAFF), высвобождаемых этими клетками, способствуют индуцированию активации NF- κ B и делают клетки ММ устойчивыми как к ингибиторам протеасом, иммуномодуляторам, что предполагает перспективу комбинирования этих препаратов с ингибиторами NF- κ B и/или антителами, блокирующими эти растворимые факторы [26].

■ АДИПОЦИТЫ

Адиipoциты костного мозга (АКМ) являются дериватами мезенхимных клеток и в среднем составляют около 70% объема КМ у типичного пациента с ММ. Несмотря на то что эти клетки составляют значительную часть микроокружения опухоли, их специфическая роль в патогенезе и прогрессировании ММ остается в значительной степени малоизученной. Говоря о группах риска развития ММ, было установлено, что у пациентов с МГНГ и ожирением вероятность развития ММ на 20% выше [27]. Добавление культуральной среды, кондиционированной дифференцированными адипоцитами человека, полученными из стволовых клеток жировой ткани пациентов с различными значениями ИМТ, к ПК опосредует их прикрепление к поверхности культуральных флаконов. Следует отметить, что наибольшая степень прикрепления наблюдалась при добавлении культуральной среды от адипоцитов людей с ожирением (ИМТ 30–35 кг/м²). При культивировании ПК совместно с адипоцитами увеличение адгезивной способности миеломных клеток ассоциировано с повышением содержания в них α 4-интегринa [39].

Миграция и адгезия миеломных клеток в КМ опосредована в первую очередь молекулами адгезии, экспрессируемыми на клетках микроокружения. Совместное культивирование *in vitro* показало, что преадипоциты способствуют хемотаксису клеток ММ, активируя сигнальный путь Wnt/ β -катенин-зависимый регуляторный путь, а зрелые адипоциты способствуют пролиферации клеток ММ, активируя



ERK-зависимую сигнальную систему. Исследования *in vivo* показали, что клетки ММ способствуют прогрессированию заболевания, опосредованно снижая секрецию подавляющего рост опухоли адипонектина АКМ. Более того, адипоциты продуцируют и секретируют адипокины, которые стимулируют рост ПК посредством активации пути JAK/STAT-PI3K/AKT [27, 29].

Согласно ряду исследований, было показано, что адипоциты могут способствовать канцерогенезу посредством ряда механизмов: 1) секреции специфических адипокинов; 2) синергетического метаболического взаимодействия между опухолевыми клетками и АКМ; и 3) модуляции микроокружения опухоли, например, подавления Т-клеток за счет сверхэкспрессии лиганда 1 программируемой клеточной гибели (PD-L1). Говоря о первом механизме, помимо адипокинов, АКМ секретируют факторы роста и цитокины, играющие важную роль в патогенезе ММ. Наиболее значимыми среди них считаются инсулиноподобный фактор роста 1-го типа (IGF-1), IL-6 и TNF- α . Было установлено, что IGF-1 стимулирует рост и выживание первичных культур ПК. Кроме того, IGF-1 способен подавлять апоптоз, вызываемый применяемыми при терапии ММ препаратами. Обращаясь к работе D.J. Kuhn и соавт., можно отметить, что добавление IGF-1 к культуре ПК снижает их чувствительность к цитотоксическому действию бортезомиба (ингибитор активности протеасом), формируя лекарственную резистентность [30].

АКМ опосредованно способствуют нарушению клеточного иммунитета, характерного для ММ. Активация рецептора PD-1, локализованного на поверхности активированных Т-лимфоцитов и ЕК-клеток, посредством связывания с PD-L1 блокирует регуляторные сигналы от Т-клеточного рецептора (TCR) и активационных рецепторов на Т- и ЕК-клетках, что приводит к снижению функциональной активности Т-клеток, а также ингибированию цитотоксичности и секреции интерферона γ (IFN- γ) ЕК-клетками при ММ [31].

Таким образом, клетки микроокружения ММ могут как стимулировать рост ММ, так и угнетать ее развитие через различные сигнальные пути, взаимодействуя с элементами микроокружения.

■ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ЛАНДШАФТ

На сегодняшний день при ММ описано более 60 драйверных генов, участвующих в канцерогенезе заболевания. Мутации каждой определенной опухоли можно условно разделить на три типа, учитывая их роль в развитии заболевания: первый тип мутаций – так называемые драйверные мутации, которые инициируют развитие заболевания; второй – мутации в генах, ускоряющих накопление изменений в геноме; третий – нейтральные, возникающие по причине нарастания темпа мутагенеза в миеломных клетках, не влияя при этом на развитие опухоли [28]. Согласно имеющимся литературным данным, рост мутационной нагрузки в опухолевых клетках напрямую связан с повышением степени тяжести заболевания. Этот факт может частично объяснить ограниченную эффективность ингибиторов контрольных точек, поскольку ключевую роль в механизме их действия играет иммунное распознавание опухолевых антигенов цитотоксическими Т-лимфоцитами [29].

На основании данных ретроспективного анализа N. Abdallah и соавт. выявили корреляцию генетического профиля и особенностей клинического фенотипа заболевания. Транслокации t(4;14), t(14;16), t(6;14) и t(14;20) ассоциировались с анемией,

бета-2-микроглобулином >5,5 мкг/мл и повышенным содержанием ($\geq 50\%$) плазматических клеток при исследовании КН; наличие t(4;14) коррелировало с более высоким уровнем моноклонального иммуноглобулина в сыворотке крови и активной пролиферацией ПК. Общая частота ответа на терапию, содержащую ингибиторы протеасом, была выше при наличии транслокаций с вовлечением локуса *IGH* по сравнению с трисомиями (83% против 71%, $p=0,002$). В исследовании Avet-Loiseau et al. была обнаружена большая доля почечной дисфункции ($Cr \geq 2$) среди пациентов с t(14;16), t(6;14) и t(14;20) транслокациями. Greenberg et al. изучали связь между цитогенетическими подтипами и клинической картиной повреждения органов-мишеней. Пациенты с t(14;16) с большей вероятностью имели почечную недостаточность, тогда как пациенты с t(11;14) и t(6;14) чаще обращались с поражениями костей [32, 33].

К хромосомным aberrациям, вовлекающим ген *MAF*, относят транслокации t(14;16) и t(14;20): в опухолях, несущих эти перестройки, верифицирована гиперэкспрессия генов, кодирующих транскрипционные факторы *MAF* и *MAFB* соответственно (табл. 1). Учитывая тот факт, что данные транскрипционные факторы регулируют экспрессию генов цитозиндезаминаз *АРОВЕС*, в опухолях с транслокациями t(14;16) и t(14;20) выявляются кластерные мутации, обусловленные действием ферментов *АРОВЕС*. Мутационная сигнатура *АРОВЕС* наблюдается в 3,8% случаев и является плохим прогностическим фактором. Пациенты с такой сигнатурой имеют высокий уровень мутационной нагрузки и неблагоприятный прогноз [35].

Таблица 1
Хромосомные aberrации, влияющие на клиническое течение и прогноз пациентов с ММ
Table 1

Chromosomal aberrations affecting the clinical course and prognosis of MM patients

Хромосомная aberrация	Вовлеченный регион и биологический смысл	Встречаемость, %	Группа риска	Рекомендуемая терапия
t(4;14)	<i>FGFR3</i> и <i>NSD2</i>	11	Высокий риск (неблагоприятный прогноз). Медиана ОВ – 5 лет	Проведение индукционной терапии на основе ингибиторов протеасом ассоциировано с улучшением частоты полных ответов на терапию в цитогенетических группах высокого риска, особенно при t(4;14). Так, применение бортезомиба значительно улучшает прогноз (как с точки зрения беспрогрессивной, так и общей выживаемости) у пациентов с t(4;14). Недостаточный ответ на терапию был достигнут при назначении алкилирующих агентов, включая высокие дозы мелфалана [36]. Рекомендованы схемы на основе иммуномодуляторов. У пациентов с впервые диагностированной ММ с t(4;14) в ранние сроки рекомендовано проведение аутоТГСК. При проведении многофакторного анализа tandemная аутоТГСК улучшает показатели ОВ по сравнению с однократной аутоТГСК ($p=0,096$) [37]



Продолжение таблицы 1

Хромосомная aberrация	Вовлеченный регион и биологический смысл	Встречаемость, %	Группа риска	Рекомендуемая терапия
t(6;14)	<i>IGH:CCND3</i>	1–3	Стандартный риск 1, 2 (благоприятный прогноз). Медиана выживаемости – 8 лет	На сегодняшний день есть предварительные данные о чувствительности к венетоклаксу. Рекомендуется применение комбинированной терапии, включающей иммуномодулирующие препараты и ингибиторы протеасом [38]
t(11;14)	<i>CCND1</i> Регуляция клеточного цикла	14	Стандартный риск (благоприятный прогноз). Медиана ОВ – 7–10 лет	Из-за увеличенной экспрессии <i>Bcl2</i> у пациентов с данной транслокацией наблюдается повышенная чувствительность к ингибитору <i>Bcl2</i> – венетоклаксу. Комбинированные индукционные схемы индукционной терапии на основе ингибиторов протеасом и иммуномодуляторов с последующей аутоТГСК и поддерживающей терапией [39]. Допустимо применение трехкомпонентной комбинации бортезомиба, венетоклакса и дексаметазона [40]
t(14;16)	c-MAF	Менее 5	Высокий риск (неблагоприятный прогноз). Медиана ОВ – 5 лет	Лечение 3- или 4-компонентными схемами, включающими иммуномодулирующие препараты, ингибиторы протеасом, моноклональные антитела и глюкокортикостероиды. С последующей тандемной аутоТГСК. Поддерживающая терапия бортезомибом, однако возможна MAF-опосредованная устойчивость к нему [39, 41]
t(14;20)	MAFB	1,5	Высокий риск (неблагоприятный прогноз). Медиана ОВ – 5 лет	Рекомендуются индукционные курсы на основе ингибиторов протеасом с последующей тандемной аутоТГСК. Стандарт лечения включает 3- или 4-компонентные схемы. Проведение курса терапии CVD (циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон) после индукционной терапии для получения лучшего ответа. В качестве поддерживающей терапии рекомендуется бортезомиб или леналидомид. Возможна MAF-опосредованная устойчивость к бортезомибу [42]
Трисомии, гипердиплоидия	Трисомия хромосом: 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19, 21	50–60	Стандартный риск (благоприятный прогноз). Медиана ОВ – 7–10 лет	Эффективно лечение иммуномодулирующими препаратами (леналидомид) [39]. Благоприятный прогноз у пациентов с трисомиями хромосомы 3 или 5 при использовании 3-компонентных схем индукционной терапии с последующей аутоТГСК
Гиподиплоидия	Выявление менее 44 хромосом в клетке	15	Высокий риск (неблагоприятный прогноз)	–

Продолжение таблицы 1

Хромосомная aberrация	Вовлеченный регион и биологический смысл	Встречаемость, %	Группа риска	Рекомендуемая терапия
Дубликации				
1q:	CKS1B, MCL1, ANP32E, BCL9, PSMD4, PDZK1, IL6R, ADAR, ILF2, MUC1	40	Высокий риск (прогноз неблагоприятный). Медиана ОВ – 5 лет	Ведутся исследования ингибиторов Mcl1. Назначение 3- или 4-компонентной схемы (леналидомид, бортезомиб, дексаметазон и даратумумаб) в качестве индукционной терапии [41]. В некоторых исследованиях показан лучший ответ при лечении ингибиторами протеасом. Есть данные о преимуществе применения иксазомиба в сравнении с бортезомибом. Также возможно применение комбинированных схем, сочетающих леналидомид и бортезомиб [39, 40]. Было доказано, что помалидомид безопасен и эффективен при рецидивирующем течении ММ с цитогенетическими особенностями высокого риска, включая <i>atp1q</i> . Более 3 копий 1q21 связано с устойчивостью к бортезомибу. Для проведения поддерживающей терапии рекомендован леналидомид [42]
Вторичные транслокации				
MYC	T(8;14)(q24.1;q32) и его варианты – t(2;8)(p12;q24.1) и t(8;22)(q24.1;q11.2) <i>IGH, IGH, FAM46C, TXNDC5, FOXO3, BMP6, XBP1, CCND1, CCND3</i>	15–23	Высокий риск, неопределенный риск (неблагоприятный прогноз, если вовлечен локус <i>IGL</i>). Медиана ОВ – 5 лет	Литературные данные об эффективности эпигенетического воздействия ВЕТ-ингибиторов [40]. Данные доклинических испытаний при применении лефлуномида, который способен снижать экспрессию MYC [39]
Делеции				
1p	<i>CDKN2C, FAF1, MTF2, TMED5, FAM46C</i> (регуляция процессов трансляции), <i>CDC14A</i>	20–30	Высокий риск (неблагоприятный прогноз)	Стандартные схемы терапии для пациентов высокого цитогенетического риска. Подавление регуляции <i>FAM46C</i> как вследствие мутации <i>del(1p12)</i> , так и вне зависимости от нее приводит к резистентности к дексаметазону и леналидомиду <i>in vitro</i> [38, 39]
13	<i>RB1</i> и <i>DIS3</i> (эндорибонуклеаза)	45	Промежуточный риск (часто сочетается с другими хромосомными aberrациями, прогноз неясен, может быть неблагоприятным). Аберрация высокого риска <i>t(4;14)</i> появляется в комбинации с <i>del(13q)</i> в 80% случаев. Медиана ОВ – ~5 лет	Рекомендуется лечение с использованием схем на основе ингибиторов протеасом. Есть данные о влиянии делеции <i>RB</i> на увеличение экспрессии <i>PDL1</i> , которая опосредована путем <i>NF-kB</i> , поэтому на сегодняшний день изучается применение ингибиторов <i>PD-L1</i> в этой подгруппе пациентов [38]



Окончание таблицы 1

Хромосомная аберрация	Вовлеченный регион и биологический смысл	Встречаемость, %	Группа риска	Рекомендуемая терапия
Делеции				
17p	TP53	5–12	Высокий риск (неблагоприятный прогноз). Медиана ОВ – ~5 лет	Индукционные схемы на основе иммуномодулирующих препаратов и ингибиторов протеасом (бортезомиб или карфилзомиб) улучшают результаты лечения. Возможно назначение 3- или 4-компонентной индукционной терапии (леналидомид, бортезомиб, дексаметазон и даратумумаб). Так, 3-компонентный режим терапии KRd (карфилзомиб, леналидомид и дексаметазон) улучшает показатели выживаемости пациентов [42]. Рекомендована тандемная аутоТГСК и длительная поддерживающая терапия бортезомибом [39]. Исследование, проведенное с иксазомибом в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном, показало лучшую выживаемость без прогрессии (ВБП) у пациентов с del(17p) по сравнению с леналидомидом и дексаметазоном [40]. Комбинация помалидомида и дексаметазона показала хорошие результаты у пациентов с рецидивирующим течением ММ, содержащих del(17p), у которых ВБП была аналогична таковой у пациентов, отнесенных к группе стандартного риска [39, 40]. В настоящее время ведется несколько активных исследований с элутузумабом в комбинации с другими препаратами (элутузумаб + VRD). Моноклональное антитело к CD38 исатуксимаб также изучалось при ММ, при этом исследование фазы II продемонстрировало более высокий общий показатель ответа у пациентов с del(17p), чем у пациентов со стандартным риском (40% против 17%) [40, 41]

Примечания: аутоТГСК – аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; ОВ – общая выживаемость. Таблица составлена на основании серии обзоров [36–42].

Генетические события, приводящие к увеличению копийности плеча 1q, могут быть классифицированы в группу +1q (табл. 1). Амплификация 1q (≥ 4 копий) примерно в 40% случаев отмечена de novo и у 70% пациентов в ходе прогрессирования ММ. При МГНГ такие события обнаруживаются с частотой около 20–30% в популяции, что сопоставимо с частотой встречаемости при тлеющей миеломе около 30% [45, 46]. Область 1q содержит большое количество генов, включая *IL6R*, *MCL-1*, *ILF2*, *BCL9* и *CKS1B*, управляющие амплификацией ампликона 1q21. Амплификация участка 1q21 часто приводит к повышенной экспрессии или дерегуляции этих генов, что часто коррелирует с неблагоприятным прогнозом и лекарственной устойчивостью.

Так, гиперэкспрессия *CKS1B* активирует патогенетически значимые сигнальные пути *MEK/ERK* и *JAK/STAT3*. Амплификация *1q21* (более 4 копий гена *CKS1B*) относится к категории ультравысокого риска и связана с крайне неблагоприятным прогнозом (табл. 1) [44].

■ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ, НАЦЕЛЕННАЯ НА АБЕРРАНТНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ

За последние два десятилетия в связи с использованием новейших методов исследования были пересмотрены как диагностические критерии ММ, так и системы стадирования, группы риска, определяющие прогноз лечения заболевания. Благодаря развитию технологии секвенирования нового поколения (NGS) было показано, что профиль генетических нарушений, выявляемых в опухолях у разных пациентов и в разных клетках опухоли у одного пациента, существенно отличается. ММ одного пациента может сочетать в себе от 3 и более различных клонов злокачественных плазматических клеток, каждый из которых имеет свои уникальные биологические характеристики и клиническую агрессивность. На протяжении течения заболевания численный и качественный набор, а также доминантность опухолевых клонов могут претерпевать изменения. Такая олигоклональность способствует формированию резистентности к лечению. Только исчерпывающая информация о состоянии генома и транскриптома опухоли позволяет выделить потенциальные биомаркеры для таргетного лекарственного воздействия, тем самым делает терапию максимально персонализированной. Данный подход к ведению пациентов невозможен при использовании только стандартных генетических методов диагностики, имеющих целый ряд диагностических ограничений [28].

Согласно исследованию Национального научно-исследовательского института рака по миеломе XI (NCT01554852, CRUK/09/014), включавшему 463 пациентов, гены с высокой частотой мутаций включают *IRF4*, *KRAS*, *NRAS*, *MAX*, *HIST1H1E*, *RB1*, *EGR1*, *TP53*, *TRAF3*, *FAM46C*, *DIS3*, *BRAF*, *LTB*, *CYLD* и *FGFR3* [47]. Значение обнаруженных мутаций представлено в табл. 2. Соматические мутации в гене *FGFR3* выявлены только у пациентов с транслокацией *t(4;14)*, а мутации в гене *EGR1* – исключительно в гипердиплоидных образцах. В 11% случаев были идентифицированы варианты мутации *TP53* (*del(17p)*) в 9,5% случаев и мутации *TP53* в 3% случаев). У 80% пациентов при прогрессировании болезни была диагностирована делеция короткого плеча хромосомы 17, в то время как в дебюте заболевания данная мутация встречалась у 10% пациентов. В описанных случаях утрата гетерозиготности в локусе, содержащем ген *TP53*, является критическим этапом в развитии заболевания, что приводит к потере клеткой основного «стража» клеточного генома – гена *TP53*, ответственного за противоопухолевую защиту. Другие мутировавшие гены, связанные с доставкой апоптотического сигнала, включали *ATM* и *ATR*. Потеря *ATM* наблюдалась у 1,3%, а мутации – у 3% [48].

Примерно у 50% пациентов с миеломой мутации индуцируют aberrантную передачу сигналов в пути *MAPK/ERK* (*NRAS*, *KRAS*, *BRAF* и *EGR1*, а также *FGFR3*). Примерно у 15% пациентов с ММ обнаруживают мутации, влияющие на пути репарации ДНК, такие как *TP53*, *ATR*, *ATM* и *ZFH4* гены, которые связаны с более короткой выживаемостью. Более того, мутации, включающие путь *NF-kB*, могут быть обнаружены примерно у 20% пациентов с ММ, затрагивая гены *TRAF3*, *NFKBIA*, *BIRC2/3* или *CYLD* [49].



Таблица 2
Биологическое значение наиболее часто встречающихся мутаций при ММ (NCT01554852, CRUK/09/014)

Table 2
Biological significance of the most frequently occurring mutations in MM (NCT01554852, CRUK/09/014)

Ген	Биологическое значение	Частота
<i>NRAS</i>	MAPK-сигнальный путь	22–25%
<i>KRAS</i>	MAPK-сигнальный путь	20–23%
<i>TP53</i>	Супрессор опухолевого роста, вовлеченный в репарацию ДНК и апоптоз	7–15%
<i>FAM46C</i>	Процессы трансляции	10%
<i>BRAF</i>	MAPK-сигнальный путь	5–15%
<i>TRAF3</i>	NF-κB-сигнальный путь	2–6%
<i>EGR1</i>	Транскрипционный фактор	3–6%
<i>FAT3</i>	Клеточная адгезия (кадгерины)	5–7%
<i>CCND1</i>	Регуляция процессов клеточного цикла	3%

Таблица 3
Перспективные лекарственные препараты, нацеленные на aberrantные пути при ММ

Table 3
Prospective drugs targeting aberrant pathways in MM

Сигнальный путь	Название лекарства	Механизм действия	Клинические исследования
JAK-STAT	Руксолитиниб	JAK2-ингибитор	
	SC99	JAK2/STAT3-ингибитор	
NF-κB	Данфин	Ингибитор протеасом – ингибирует активацию NF-κB и передачу сигналов	
RAS/RAF/MEK/ERK	Селуметиниб	Ингибитор MEK1/2 (блокирует MEK непосредственно после BRAF)	NCT01085214
	Вемурафемиб	BRAF-ингибитор	NCT01524978
	Кобиметиниб	BRAF-ингибитор	NCT03312530
FGFR	Довитиниб (TKI258)	Неселективный ингибитор FGFR	NCT02465060
	MFGR1877S	Моноклональное антитело против FGFR	
Циклин D	Пальбоциклиб	CDK4/6-ингибитор	
PI3K/AKT/mTOR	Клиохинол	Гидроксихинолин, снижающий экспрессию mTOR, индуцирующий аутофагию в клетках ММ	NCT00963495
	BEZ235	mTOR-ингибитор	
	C98	PI3K/AKT-ингибитор	
	C96	PI3K/AKT-ингибитор	
	SC-06	Нарушает сигнальный путь mTOR, подавляя регуляцию Raptor, ключевого компонента передачи сигналов mTORC1	
Эпигенетическая регуляция	Панобиностат	Ингибитор гистондеацетилазы	NCT01651039 NCT01023308
	Воринонат	Ингибитор гистондеацетилазы	NCT00773838
	Ромидепсин	Ингибитор гистондеацетилазы	NCT00066638 NCT01755975
	Риколиностат	Ингибитор гистондеацетилазы	NCT01323751
	CGI13250	Подавляет транскрипцию MYC, блокируя связывание BRD4 с промотором MYC	

Примечание: таблица составлена на основании серии обзоров [47–72].

Сбой пути PI3K происходит у пациентов с транслокациями *MAF*. Мутации в генах *CCND1/2/3, CDK4/6* и *RB1* нарушают регуляцию механизмов контроля клеточного цикла и связаны с неблагоприятными исходами [50]. Терапевтические опции воздействия на выявленные сигнальные пути представлены в табл. 3.

RAS/RAF/MEK/ERK

Путь *RAS/RAF/MEK/ERK* является важным регулятором экспрессии генов, выживания клеток, пролиферации, миграции и ангиогенеза. Мутации *KRAS/NRAS/BRAF* обнаруживаются примерно у 50% пациентов с ММ и от 45% до 81% пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ (р/р ММ) [51]. Мутации *RAS* связаны с более агрессивным клиническим течением, приводящим к более короткой выживаемости. Транслокация *t(4;14)* может вызывать повышенную экспрессию *FGFR3*, которая также стимулирует *RAS/MAPK*-путь. *IL-6* также запускает рост клеток по пути *RAS/MAPK*. По сравнению с впервые диагностированной ММ, пациенты с р/р ММ имеют статистически значимо более высокую общую частоту мутаций *RAS/BRAF* ($p=0,011$), что в основном обусловлено более высокой распространенностью мутаций *NRAS* ($p=0,010$). Mulligan G. и соавт. наблюдали, что пациенты с мутацией гена *NRAS* при отсутствии мутации гена *KRAS* имели значительно более низкие показатели ответа ($p=0,016$) и более короткое время до прогрессирования ($p=0,012$) после монотерапии бортезомибом. Эти данные указывают на то, что важный компонент противоопухолевой активности бортезомиба действует на уровне, предшествующем передаче сигналов выживания *NRAS*, и, таким образом, не может эффективно уничтожать клетки миеломы с этой мутацией [52].

Ингибиторы митоген-активируемой протеинкиназы (*MEK*) могут уничтожать клеточные линии ММ, которые имеют мутации в онкогене мышечно-апоневротической фибросаркомы (*MAF*) и устойчивы к другим химиотерапевтическим агентам, таким как леналидомид, помалидомид, бортезомиб и дексаметазон [53, 54].

BRAF и MEK

Селуметиниб и сорафениб – это два исследуемых препарата для применения при ММ с мутациями в пути *RAS/RAF/MEK/ERK*. В исследовании II фазы применение ингибитора *MEK* селуметиниба (*AZD 6244*) для лечения р/р ММ в качестве монотерапии *AZD6244* привело к минимальному улучшению, и только у 2 из 36 пациентов с ММ, получавших интенсивное предварительное лечение, наблюдался очень хороший частичный ответ.

Другое исследование II фазы для оценки эффективности сорафениба, мультикиназного ингибитора, у пациентов с р/р ММ продемонстрировало, что пациенты, у которых выявлена активирующая мутация *V600E* в *BRAF*-киназе, имеют более агрессивное клиническое течение, высокую частоту экстрамедуллярных поражений и более короткую общую выживаемость. Мутации *BRAF* являются широко распространенными при меланоме и волосатоклеточном лейкозе, и лечение вемурафенибом, ингибитором *BRAF*, показало клиническую эффективность. Andrulis M. и соавт. сообщили о пациенте с р/р ММ с *BRAF V600E*, заболевание которого было резистентно ко всем стандартным методам лечения, но оказалось чувствительно к вемурафенибу. В ходе лечения *BRAF*-ингибитором была достигнута длительная стабилизация заболевания. Необходимы более масштабные исследования для дальнейшего изучения роли ингибиторов мутации *BRAF* в лечении пациентов с ММ, носящих мутацию *V600E* [55].



ЯК-STAT-сигнальный путь

Янус-киназа 2 (JAK2) – это тирозинкиназа, которая связывается с рецепторами цитокинов. Считается, что аутокринный и паракринный IL-6 приводит к усилению регуляции пути JAK2 [56]. Связывание цитокина IL-6 с рецептором приводит к димеризации рецептора и позволяет JAK2 перекрестно фосфорилировать рецепторы. После фосфорилирования они действуют как «стыковочный узел» для преобразования сигнала JAK2-киназы и активации транскрипционных белков (STAT), которые связываются и влияют на экспрессию генов в качестве фактора транскрипции [57]. Сообщалось, что ингибирование рецептора IL-6 и пути STAT3 индуцирует апоптоз в различных клеточных линиях миеломы [58, 59]. Активация пути JAK2 при MM приводит к повышенной экспрессии Vcl-xL, которая защищает клетки от гибели, вызванной химиотерапией. Интересно, что мутация *JAK2V617F*, которая обычно встречается при миелопролиферативных заболеваниях, нередко верифицируется у пациентов с MM. Ингибиторы пути JAK, включая руксолитиниб, действуют путем связывания с рецептором цитокина и предотвращают ассоциацию с JAK2, тем самым снижая активность. Zhang Z. и соавт. идентифицировали ингибитор SC99, который проявляет мощную активность в отношении клеток MM, уменьшая их пролиферацию и усиливая апоптоз клеток MM как *in vitro*, так и модели ксенотрансплантата MM у мышей [60, 61].

Ингибирование BCL-2

Kumar S. и соавт. провели исследование фазы I с участием 66 пациентов с рецидивирующей/рефрактерной MM, использующих венетоклакс, ингибитор BCL-2. Венетоклакс вводили еженедельно с увеличением дозы (300, 600, 900 или 1200 мг), имели приемлемый профиль токсичности. Общая частота ответа составила 21% (14/66), а у 15% наблюдался частичный ответ или выше. Наилучший ответ (12/14, 86%) наблюдался у пациентов с t(11;14), транслокацией, которая связана с высокими уровнями BCL-2. У пациентов с t(11;14) наблюдалась общая частота ответа 40%, а частичный ответ – 27% [62].

NF-κB-сигнальный путь

Ядерный фактор NF-κB в первую очередь участвует в регуляции транскрипции ДНК, продукции цитокинов, клеточной пролиферации и в конечном счете выживании клеток. Считается, что NF-κB играет важную роль в патогенезе MM, поскольку этот путь становится конститутивно активным, что является потенциальным механизмом, посредством которого опухолевые клетки функционируют независимо от микроокружения KM [63]. Нарушение регуляции пути NF-κB привело к усиленной пролиферации раковых клеток и увеличению вероятности развития опухоли. Кроме того, активация пути NF-κB приводит к литическому поражению костей при MM путем активации остеокластов посредством пути NF-κB [64]. Ингибиторы протеасом, которые частично действуют путем ингибирования NF-κB, показали большой клинический успех как при впервые выявленной MM, так и при р/р течении. DANFIN (N,N0-бис-(2,4-диметилфенил)-этан-1,2-диамин) ингибирует активацию NF-κB и передачу сигналов. В доклинических исследованиях Uematsu A. с соавт. применяли к мышинной модели ксенотрансплантата MM комбинацию DANFIN с бортезомибом. По результатам исследования, использование данных препаратов снижало объем опухолевой массы более чем на 60% посредством активации апоптоза клеток MM [65, 66].

Кобиметиниб (C21H21F3IN3O2) – препарат, одобренный Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) для лечения меланомы с *BRAF*-мутацией (мутация V600E или V600K) в комбинации с вемурафенибом. Исследование III фазы комбинированного ингибирования применения *BRAF* (вемурафениба) и *MEK* (кобиметиниба) показало статистически значимое ($p < 0,001$) улучшение беспрогрессивной выживаемости (БПВ) у пациентов с меланомой с мутацией *BRAF* по сравнению с применением только вемурафениба. При применении только вемурафениба БПВ составила 6,2 месяца, в то время как при применении комбинации БПВ – 9,9 месяца, разница в 16 недель [67].

В настоящее время проводится 2 клинических испытания с использованием кобиметиниба в качестве монотерапии и в комбинации с венетоклаксом с атезолизумабом или без него у пациентов с р/р ММ [68].

FGFR3

Мутации *FGFR3* были идентифицированы при ММ. Транслокация t(4;14) (p16.3;q32) может быть обнаружена примерно у 15–20% пациентов с ММ и приводит к эктопической экспрессии *FGFR3*. Клеточные линии миеломы с транслокацией t(4;14) высокочувствительны к ингибированию, направленному на *FGFR3* [69]. Было показано, что моноклональные антитела, нацеленные на *FGFR3*, обладают значительным ингибирующим действием на клеточную пролиферацию в t(4;14)-положительных случаях ММ. FGR1877S – моноклональное антитело человека против *FGFR3*, которое изучалось в ходе исследования I фазы. Было обнаружено, что в целом препарат хорошо переносится пациентами с р/р ММ. Нежелательные реакции не были отмечены, однако сохранение ответа на терапию в ходе лечения наблюдалось у 3 из 14 пациентов в течение 3–4 циклов [70].

Довитиниб (TKI258) является хорошо изученным неселективным ингибитором *FGFR* второго поколения. В открытом нерандомизированном исследовании II фазы довитиниб не продемонстрировал монотерапевтической активности при р/р ММ, но не может обеспечить долгосрочный ответ на проводимое лечение у части t(4;14)-позитивных пациентов [71].

Эпигенетическое ремоделирование

Нарушение регуляции эпигенетики все чаще признается в патогенезе гематологических злокачественных новообразований, и в последнее время появился ряд эпигенетических методов терапии, нацеленных на метилирование ДНК, ацетилирование и посттрансляционную модификацию гистонов [72].

■ СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ ФГБУ «РОСНИИГТ ФМБА» РОССИИ

С целью оценки прогностической значимости мутаций генов у пациентов с ММ в гематологической клинике ФГБУ «РосНИИГТ ФМБА» России проведено исследование у 40 пациентов с ММ и медианой возраста 59 (51–68) лет. Длительность наблюдения составила 33 месяца с максимальным периодом наблюдения 12,5 года. Всем пациентам проведен мутационный скрининг с использованием NGS-панели зондов к 118 генам на платформе NextSeq Illumina методом парно-концевого чтения. Для определения прогностической значимости всех найденных мутаций у каждого пациента была рассчитана опухолевая мутационная нагрузка (ТМВ), которая



определялась как количество мутаций на 1 мегабазу (Mb) последовательности. Количественные переменные представлены в виде Me (Q3–Q1). Данные анализировались с использованием Jamovi 2.4.8.0 (macOS).

В качестве режима терапии 1-й линии были проведены курсы CVD – 42,1%, VD – 21,1%, VMP – 7,9%, DaraVMP – 5,3%, PAD – 5,3%, другие режимы – 18,3%. Большинство пациентов после проведения 1-й линии терапии достигли частичного ответа – 51,6% (частота объективного ответа составила 79,3%), рецидив после проведенного лечения отмечался у 27,3% пациентов, прогрессирование – у 34,8%.

При проведении NGS было выявлено 484 аллельных варианта, мутировано 57 из 118 исследуемых генов. Медиана VAF составила 46,91% (10,0–50,38), медиана TMB – 5,0 мутаций/Mb. Проведенный анализ в отношении 2-летней БСВ в зависимости от величины TMB (≤ 5 мутаций/Mb и > 5 мутаций/Mb) продемонстрировал достоверные различия в группах: у пациентов с высокой TMB (> 5) 2-летняя БСВ составила 69,6% (95% ДИ 50,3–96,5), с низкой TMB (≤ 5) – 95,0% (95% ДИ 85,9–100), $p=0,046$. С другой стороны, при проведении анализа БСВ для количественных переменных (в нашем случае значение TMB для каждого пациента) точка отсечения составила 6,63 мутации/Mb, которая также продемонстрировала прогностическую значимость TMB у пациентов с ММ. Трехлетняя БСВ в группе с высокой TMB ($\geq 6,63$) составила 42,8% (95% ДИ 22,6–81,0), у пациентов с низкой TMB ($< 6,63$) – 76,7% (95% ДИ 22,6–81,0), $p=0,041$.

Наличие патогенных мутаций является неблагоприятным прогностическим параметром: 1-летняя (медиана наблюдения 12,9 месяца) БСВ у пациентов с патогенными мутациями составила 66,7% (95% ДИ 42,0–100,0), 2-летняя БСВ у пациентов без патогенных мутаций – 88,2% (95% ДИ 76,3–100,0), $p=0,078$. Наибольшая частота мутаций отмечалась в генах: *KMT2C* (31%), *KMT2D* (18%), *APC* (15%), *RYR1* (15%), *DNMT3A* (13%), *BCR* (13%), *MGA* (13%), *ARID1A* (13%), *FAT1* (10%), *ATM* (8%). Среди всех выявленных мутаций неблагоприятное влияние на течение ММ оказывали мутации в генах *FAT1*, *NRAS* и *ATM*. При анализе выживаемости 3-летняя ОВ у пациентов с мутацией *FAT1* составила 37,5% (95% ДИ 8,4–100,0), в группе дикого типа – 77,6% (61,6–97,7), $p=0,0039$. У пациентов с мутацией гена *NRAS* 3-летняя ОВ составила 50,0% (95% ДИ 12,5–100), в группе дикого типа – 74,8%, $p=0,0043$. Для пациентов с мутацией гена *ATM* 5-летняя ОВ составила 33,6% (95% ДИ 6,7–100,0) и была значимо ниже, чем в группе дикого типа – 76,9%, $p<0,0001$.

Таким образом, высокая опухолевая мутационная нагрузка являлась негативным фактором молекулярного риска ММ, а наличие хотя бы одной патогенной мутации ухудшало прогноз у пациентов с ММ. Мутации в генах *FAT1*, *NRAS* и *ATM* оказали неблагоприятное влияние на выживаемость пациентов с ММ [13].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на значительное количество работ, определяющих прогностическое значение генетических факторов риска, внедрение в клиническую практику новых лекарственных препаратов обуславливает необходимость исследования дополнительных прогностических факторов для создания программ персонализированного лечения. Последние достижения в доклинических и клинических исследованиях выявили новые aberrантные молекулярные пути при ММ. Нацеливаясь на эти пути, возможно разработать методы лечения для достижения лучших результатов с меньшим количеством побочных эффектов. Более углубленное понимание аномалий

в сигнальных путях, способствующих прогрессированию ММ, послужит дополнительной основой для разработки персонализированной терапии для пациентов. Целями для дальнейшей клинической разработки являются *BCL-2*, *MDM2*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *MEK*, *JAK-STAT*, *NF-κB*, *c-MYC/WNT*, *PI3K/AKT/mTOR*, циклин *D*, *NSD2* и *BET*.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Mendeleeva L.P., Votyakova O.M., Rekhina I.G. *Multiple myeloma. Russian clinical guidelines for the diagnosis and treatment of malignant lymphoproliferative diseases*. Moscow, 2018; 213–241 p. (in Russian)
2. DiGiuseppe J.A. Flow cytometric immunophenotyping of plasmacytic neoplasms. *Am. J. Clin. Pathol.* 2007;127(2):172–4.
3. Kyle R.A., Rajkumar S.V. Multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2004;351(18):1860–73.
4. Fonseca R., Bergsagel P.L., Drach J. et al. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia*. 2009;23(12):2210–21.
5. De Vos J., Hose D. Rème et al. Microarray-based understanding of normal and malignant plasma cells. *Immunol. Rev.* 2006;210:86–104.
6. Davies F.E., Rawstron A.C., Owen R.G., Morgan G.J. Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2002;15(1):197–222.
7. Rusanova E.B., Kurtova A.V., Stepanova N.V. et al. The method of immunofixation in the diagnosis and monitoring of multiple myeloma. *Scientific notes of St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov*. 2008;15(1):68–72. (in Russian)
8. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., et al. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edition*. Lyon: IARC Press; 2017. 592 p.
9. Castaneda O., Baz R. Multiple Myeloma Genomics – A Concise Review. *ActaMedAcad.* 2019;48(1):57–67. doi: 10.5644/ama2006-124.242
10. Kyle R.A., Rajkumar S.V. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smouldering multiple myeloma: emphasis on risk factors for progression. *Br J Haematol.* 2007 Dec;139(5):730–43. doi: 10.1111/j.1365-2141.2007.06873.x
11. Gong L., Qiu L., Hao M. Novel Insights into the Initiation, Evolution, and Progression of Multiple Myeloma by Multi-Omics Investigation. *Cancers (Basel)*. 2024 Jan 24;16(3):498. doi: 10.3390/cancers16030498
12. Rugal V.I., Bessmeltsev S.S., Semenova N.Yu., et al. Characteristics of bone marrow environment in multiple myeloma before and after treatment. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(1):112–8. (in Russian)
13. Chebykina D.A., Kunevich E.O., Kuvshinov A.Yu. et al. Features of molecular landscape of multiple myeloma. *Bulletin of Hematology*, 2024;20(2).
14. Roesch S., Rapp C., Dettling S., Herold-Mende C. When Immune Cells Turn Bad-Tumor-Associated Microglia/Macrophages in Glioma. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19:436.
15. Yahfoufi N., Alsadi N., Jambi M., Matar C. The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. *Nutrients*. 2018;10:1618. Harmer, D.; Falank, C.; Reagan, M.R. Interleukin-6 Interweaves the Bone Marrow Microenvironment, Bone Loss, and Multiple Myeloma. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 2018, 9, 788.
16. Manier S., Sacco A., Lelou X., et al. Bone marrow microenvironment in multiple myeloma progression. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012;2012:157496.
17. Hideshima T., Bergsagel P.L., Kuehl W.M., Anderson K.C. Advances in biology of multiple myeloma: Clinical applications. *Blood*. 2004;104:607–618.
18. Chubar A.V., Erukashvily N.I. Mesenchymal stem cells: role in the formation of hematopoietic niche. *Tsitologiya*. 2020;62(11):763–72. doi: 10.31857/S0041377120110024
19. Hideshima T., Anderson K.C. Signaling Pathway Mediating Myeloma Cell Growth and Survival. *Cancers*. 2021;13:216.
20. Miao Y.R., Thakkar K., Cenik C., et al. Developing High-Affinity Decoy Receptors to Treat Multiple Myeloma and Diffuse Large B Cell Lymphoma. *J. Exp. Med.* 2022;219:e20220214.
21. Omer M.H., Shafqat A., Ahmad O., et al. Bispecific Antibodies in Hematological Malignancies: A Scoping Review. *Cancers (Basel)*. 2023;15(18):4550. doi: 10.3390/cancers15184550
22. Terpos E., Zamagni E., Lentzsch S., et al. Treatment of Multiple Myeloma-Related Bone Disease: Recommendations from the Bone Working Group of the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol.* 2021;22:e119–e130.
23. Erukashvily N.I., Belik L.A., Semenova N.Y., et al. Transcription of WNT Genes in Hematopoietic Niche's Mesenchymal Stem Cells in Multiple Myeloma Patients with Different Responses to Treatment. *Genes*. 2023;14:1097. <https://doi.org/10.3390/genes14051097>
24. De Jong M.M.E., Kellermayer Z., Papazian N., et al. The Multiple Myeloma Microenvironment Is Defined by an Inflammatory Stromal Cell Landscape. *Nat. Immunol.* 2021;22:769–780.
25. Ikeda S., Abe F., Matsuda Y., et al. Hypoxia-inducible hexokinase-2 enhances anti-apoptotic function via activating autophagy in multiple myeloma. *Cancer Sci.* 2020;111:4088–101. doi: 10.1111/cas.14614
26. Wong A.H.-H., Shin E.M., Tergaonkar V., Chng W.-J. Targeting NF-κB Signaling for Multiple Myeloma. *Cancers*. 2020;12:2203.
27. Chang S.H., Luo S., Thomas T.S., et al. Obesity and the Transformation of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance to Multiple Myeloma: A Population-Based Cohort Study. *J Natl Cancer Inst.* 2016 Dec 31;109(5):djw264. doi: 10.1093/jnci/djw264
28. Ichii M., Hosen N. Current understanding of myelomatous mesenchymal stromal cells extended through advances in experimental methods. *Cancers (Basel)*. 2020;13(1):25. DOI: 10.3390/cancers13010025
29. Morris E.V., Suchacki K.J., Hocking J., et al. Myeloma Cells Down-Regulate Adiponectin in Bone Marrow Adipocytes Via TNF-Alpha. *J Bone Miner Res.* 2020 May;35(5):942–955. doi: 10.1002/jbmr.3951
30. Kuhn D.J., Berkova Z., Jones R.J. et al. Targeting the insulin-like growth factor-1 receptor to overcome bortezomib resistance in preclinical models of multiple myeloma. *Blood*. 2012;120(16):3260–70. doi: 10.1182/blood-2011-10-386789
31. Castaneda O., Baz R. Multiple Myeloma Genomics – A Concise Review. *ActaMedAcad.* 2019;48(1):57–67. doi: 10.5644/ama2006-124.242
32. Abdallah N., Rajkumar S.V., Greipp P., et al. Cytogenetic abnormalities in multiple myeloma: association with disease characteristics and treatment response. *Blood Cancer J.* 2020,10(8):1–9. doi: 10.1038/s41408-020-00348-5
33. Walker B.A., Mavrommatis K., Wardell C.P., et al. Identification of novel mutational drivers reveals oncogene dependencies in multiple myeloma. *Blood*. 2018;132(6):587–97. doi: 10.1182/blood-2018-03-840132
34. Benson D.M. Jr. Checkpoint inhibition in myeloma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016;2016(1):528–33. doi: 10.1182/asheducation-2016.1.528



35. Aksenova A.Y., Zhuk A.S., Lada A.G., et al. Genome Instability in Multiple Myeloma: Facts and Factors. *Cancers*. 2021;13(23):5949. doi: 10.3390/cancers13235949
36. Rajkumar S.V. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2020;95(5):548–67. doi: 10.1002/ajh.25791
37. Walker B.A., Wardell C.P., Murison A., et al. APOBEC family mutational signatures are associated with poor prognosis translocations in multiple myeloma. *Nat Commun*. 2015;6:6997. doi: 10.1038/ncomms7997
38. Xie Z., Chng W.J. NSD2: Role and therapeutic opportunities in multiple myeloma. *Biomed Res Int*. 2014;2014:636514. doi: 10.1155/2014/636514
39. Rustad E.H., Yellapantula V., Leongamornlert D., et al. Timing the initiation of multiple myeloma. *Nat Commun*. 2020;11(1):1–14. doi: 10.1038/s41467-020-15740-9
40. Avet-Loiseau H., Leleu X., Roussel M., et al. Bortezomib plus dexamethasone induction improves outcome of patients with t(4,14) myeloma but not outcome of patients with del(17p). *J Clin Oncol*. 2010;28(30):4630–4. doi: 10.1200/JCO.2010.28.3945.
41. Bullwinkle E.M., Parker M.D., Bonan N.F. et al. Adipocytes contribute to the growth and progression of multiple myeloma: Unraveling obesity related differences in adipocyte signaling. *Cancer Lett*. 2016;380(1):114–21. doi: 10.1016/j.canlet.2016.06.010
42. Abdallah N., Rajkumar S.V., Greipp P., et al. Cytogenetic abnormalities in multiple myeloma: association with disease characteristics and treatment response. *Blood Cancer J*. 2020;10(8):1–9. doi: 10.1038/s41408-020-00348-5
43. Goldman-Mazur S., Vesole D.H., Jurczynski A. Clinical implications of cytogenetic and molecular aberrations in multiple myeloma. *ActaHaematol Pol*. 2021;52(1):18–28. doi: 10.5603/AHP.2021.0004
44. Cardona-Benavides I.J., de Ramon C., Gutierrez N.C. Genetic Abnormalities in Multiple Myeloma: Prognostic and Therapeutic Implications. *Cells*. 2021;10(2):336. doi: 10.3390/cells10020336
45. Rajkumar V.S. Multiple myeloma: selection of initial chemotherapy for symptomatic disease. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/multiple-myeloma-selection-of-initial-chemotherapy-for-symptomatic-disease> (accessed 23.03.2022)
46. Sessa M., Cavazzini F., Cavallari M., et al. Tangle of genomic aberrations drives multiple myeloma and correlates with clinical aggressiveness of the disease: a comprehensive review from a biological perspective to clinical trial results. *Genes*. 2020;11(12):1–24. doi: 10.3390/GENES11121453
47. Shi L., Wang S., Zangari M., et al. Over-expression of CKS1B activates both MEK/ERK and JAK/STAT3 signaling pathways and promotes myeloma cell drug-resistance. *Oncotarget*. 2010;1(1):22–33. doi: 10.18632/ONCOTARGET.105
48. Minguela A., Vasco-Mogorron M.A., Campillo J.A., et al. Predictive value of 1q21 gain in multiple myeloma is strongly dependent on concurrent cytogenetic abnormalities and first-line treatment. *Am J Cancer Res*. 2021;11(9):4438.
49. Giri S., Huntington S.F., Wang R., et al. Chromosome 1 abnormalities and survival of patients with multiple myeloma in the era of novel agents. *Blood Adv*. 2020;4(10):2245–53. doi: 10.1182/bloodadvances.2019001425
50. Hanamura I. Gain/amplification of chromosome arm 1q21 in multiple myeloma. *Cancers*. 2021;13(2):1–16. doi: 10.3390/cancers13020256
51. Hanamura I., Stewart J.P., Huang Y., et al. Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization: Incidence increases from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood*. 2006;108(5):1724–32. doi: 10.1182/blood-2006-03-009910
52. Walker B.A., Boyle E.M., Wardell C.P., et al. Mutational Spectrum, Copy Number Changes, and Outcome: Results of a Sequencing Study of Patients With Newly Diagnosed Myeloma. *J Clin Oncol*. 2015;33(33):3911–20. doi: 10.1200/JCO.2014.59.1503
53. Castaneda O., Baz R. Multiple Myeloma Genomics – A Concise Review. *ActaMedAcad*. 2019;48(1):57–67. doi: 10.5644/ama2006-124.242
54. Chesi M., Brents L.A., Ely S.A., et al. Activated fibroblast growth factor receptor 3 is an oncogene that contributes to tumor progression in multiple myeloma. *Blood*. 2001 Feb 1;97(3):729–36. doi: 10.1182/blood.v97.3.729
55. Zhu J., Wang M., Yu Y., et al. A novel PI3K inhibitor PIK-C98 displays potent preclinical activity against multiple myeloma. *Oncotarget*. 2015;6:185–95.
56. Chng W., Gonzalez-Paz N., Price-Troska T., et al. Clinical and biological significance of RAS mutations in multiple myeloma. *Leukemia*. 2008;22:2280.
57. Mulligan G., Lichter D.L., Di Bacco A., et al. Mutation of NRAS but not KRAS significantly reduces myeloma sensitivity to single-agent bortezomib therapy. *Blood*. 2014;123:632–9.
58. Annunziata C.M., Hernandez L., Davis R.E., et al. A mechanistic rationale for MEK inhibitor therapy in myeloma based on blockade of MAF oncogene expression. *Blood*. 2011;117:2396–404.
59. Popovic R., Licht J.D. MEK and MAF in myeloma therapy. *Blood*. 2011;117:2300–2.
60. Andrusis M., Lehnert N., Capper D., et al. Targeting the BRAF V600E mutation in multiple myeloma. *Cancer Discov*. 2013;3:862–9.
61. Kawano M., Hirano T., Matsuda T., et al. Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature*. 1988;332:83–5.
62. Shuai K. The STAT family of proteins in cytokine signaling. *ProgBiophysMolBiol*. 1999;71:405–22.
63. Chatterjee M., Stühmer T., Herrmann P., et al. Combined disruption of both the MEK/ERK and the IL-6R/STAT3 pathways is required to induce apoptosis of multiple myeloma cells in the presence of bone marrow stromal cells. *Blood*. 2004;104:3712–21.
64. Monaghan K., Khong T., Burns C., Spencer A. The novel JAK inhibitor CYT387 suppresses multiple signalling pathways, prevents proliferation and induces apoptosis in phenotypically diverse myeloma cells. *Leukemia*. 2011;25:1891.
65. Zhang Z., Mao H., Du X., et al. A novel small molecule agent displays potent antimyeloma activity by inhibiting the JAK2-STAT3 signaling pathway. *Oncotarget*. 2016;7:9296–308.
66. Alas S., Bonavida B. Inhibition of constitutive STAT3 activity sensitizes resistant non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma to chemotherapeutic drug-mediated apoptosis. *Clin Cancer Res*. 2003;9:316–26.
67. Kumar S., Kaufman J.L., Gasparetto C., et al. Efficacy of venetoclax as targeted therapy for relapsed/refractory t(1,14) multiple myeloma. *Blood*. 2017;130:2401–9.
68. Kim J.Y., Kee H.J., Choe N.W., et al. Multiple-myeloma-related WHSC1/NSD2 isoform RE-IIBP is a histone methyltransferase with transcriptional repression activity. *Mol Cell Biol*. 2008;28:2023–34.
69. Hinz M., Krappmann D., Eichler A., et al. NF-κB function in growth control: regulation of cyclin D1 expression and G0/G1-to-S-phase transition. *Mol Cell Biol*. 1999;19:2690–8.
70. Richardson P.G., Barlogie B., Berenson J., et al. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N Engl J Med*. 2003;348:2609–17.
71. Uematsu A., Kido K., Manabe E. et al. DANFIN functions as an inhibitor of transcription factor NF-κB and potentiates the antitumor effect of bortezomib in multiple myeloma. *BiochemBiophys Res Commun*. 2018;495(3):2289–2295. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.12.142
72. Larkin J., Ascierto P.A., Dréno B., et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med*. 2014;371(20):1867–76. doi: 10.1056/NEJMoa1408868



Писаревская О.Н., Алексеев С.А., Троян В.Н., Мнацаканова И.В., Сарачан Д.А.✉
Главный военный клинический госпиталь имени Н.Н. Бурденко, Москва, Россия

Трудности дифференциальной диагностики первичной лимфомы головного мозга с использованием лучевых методов исследования. Клинический случай

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, редактирование – Писаревская О.Н., Троян В.Н.; сбор материала, обработка, написание текста – Алексеев С.А., Сарачан Д.А., Мнацаканова И.В.

Подана: 19.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: Sarachan.dmitriy@mail.ru

Резюме

В представленной статье освещен клинический случай пациента с первичной лимфомой центральной нервной системы. Проиллюстрированы типичные лучевые признаки поражения головного мозга при данной патологии с использованием таких методов диагностики, как компьютерная томография и магнитно-резонансная томография. Изложены не только классические радиологические характеристики при данном заболевании, но и атипичные паттерны, которые встречаются в практике у иммунокомпрометированных пациентов. Продемонстрированы трудности дифференциальной диагностики первичной лимфомы головного мозга и инфаркта головного мозга на разных его стадиях.

Ключевые слова: первичная лимфома центральной нервной системы, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография



Pisarevskaya O., Alekseev S., Troyan V., Mnatsakanova I., Sarachan D.✉
Main Military Clinical Hospital named after N.N. Burdenko, Moscow, Russia

The Difficulties of Differential Diagnosis of Primary Lymphoma of the Brain Using Radiation Research Methods. A Clinical Case

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: the concept and design of the study, editing – Pisarevskaya O., Troyan V.; collecting material, processing, writing text – Alekseev S., Sarachan D., Mnatsakanova I.

Submitted: 19.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: Sarachan.dmitriy@mail.ru

Abstract

The article presented to your attention highlights the clinical case of a patient with primary lymphoma of the central nervous system. Typical signs of brain damage in this pathology are illustrated using computed tomography. Not only the classical characteristics of the magnetic resonance pattern in this disease are described, but also atypical patterns that are often found in practice, especially in immunocompromised patients. Demonstrated the difficulties of differential diagnosis of primary lymphoma of the brain and infarction of the brain at its various stages.

Keywords: primary lymphoma of the central nervous system, computed tomography, magnetic resonance imaging

■ ВВЕДЕНИЕ

Первичная лимфома центральной нервной системы (ПЛЦНС) – редкая экстракраниальная неходжкинская лимфома, которая может поражать все структуры центральной нервной системы (ЦНС), в том числе мозговые оболочки, спинной мозг, но в преобладающем количестве случаев – головной мозг (ГМ) [1].

Лучевые методы диагностики головного мозга, такие как магнитно-резонансная томография (МРТ) и компьютерная томография (КТ), играют значимую роль в диагностике не только для исключения состояний, требующих неотложной терапии (ишемический инсульт, геморрагический инсульт и др.), но и для дифференциальной диагностики с другими поражениями головного мозга, например демиелинизирующими заболеваниями, инфекционными поражениями, в том числе для сужения дифференциального ряда между разными опухолевыми нозологиями [2, 3].

Известны типичные признаки лимфомы головного мозга, выявляемые при МРТ, к которым относятся локализация, сигнальные характеристики, наличие перифокального отека и масс-эффекта [4]. Однако ни один из них, к сожалению, не может однозначно отличить ПЛЦНС от других неопластических или неопухолевых поражений головного мозга, таких как инфаркт, кровоизлияние и др.

Следует учитывать, что у пациентов с нарушениями в иммунной сфере, например с наличием ВИЧ-инфекции, лучевая картина может существенно отличаться от классической [5].

В данной статье представлен клинический случай пациента с ПЛЦНС, которому потребовалась дифференциальная диагностика с инфарктом вещества головного мозга.

■ КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациент Ю., 1951 года рождения. Основное заболевание – ПЛЦНС. Фоновое заболевание: хроническая Эпштейна – Барр вирусная инфекция.

В феврале 2019 г. пожаловался на ухудшение памяти.

В этом же месяце была выполнена КТ ГМ, при которой выявлены многочисленные супратенториальные объемные образования (рис. 1). В заключении было предположено метастатическое поражение и лимфома головного мозга. При проведении КТ органов грудной клетки, органов брюшной полости и органов малого таза (ОГК, ОБП, ОМТ) признаков злокачественных образований не выявлено.

Была проведена костно-пластическая трепанация черепа в левой лобной области с открытой биопсией образования из левой лобной доли. По результатам исследования гистологическая картина и иммунофенотип соответствовали диффузной В-клеточной лимфоме. Таким образом, диагностирована диффузная В-крупноклеточная лимфома ЦНС.

В марте и апреле 2019 г. проведено 2 цикла высокодозной химиотерапии. С октября 2019 по январь 2024 г. сохранялась ремиссия лимфомы, МРТ головного мозга выполнялась амбулаторно.

В январе 2024 г. появились спутанность сознания, галлюцинации, слабость в ногах, пациент перестал самостоятельно ходить, передвигался только с посторонней помощью. Госпитализирован в гематологический центр ГВКГ им. Н.Н. Бурденко с подозрением на рецидив лимфомы.

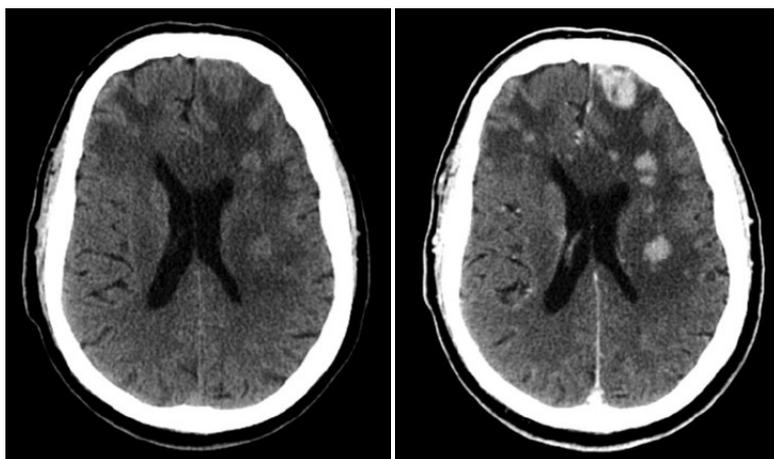


Рис. 1. КТ ГМ с внутривенным контрастированием. В обеих гемисферах головного мозга определяются образования, накапливающие контрастное вещество, окруженные зоной отека
Fig. 1. CT scan of the brain with intravenous contrast. In both hemispheres of the brain, formations accumulating contrast material are detected, surrounded by a zone of edema

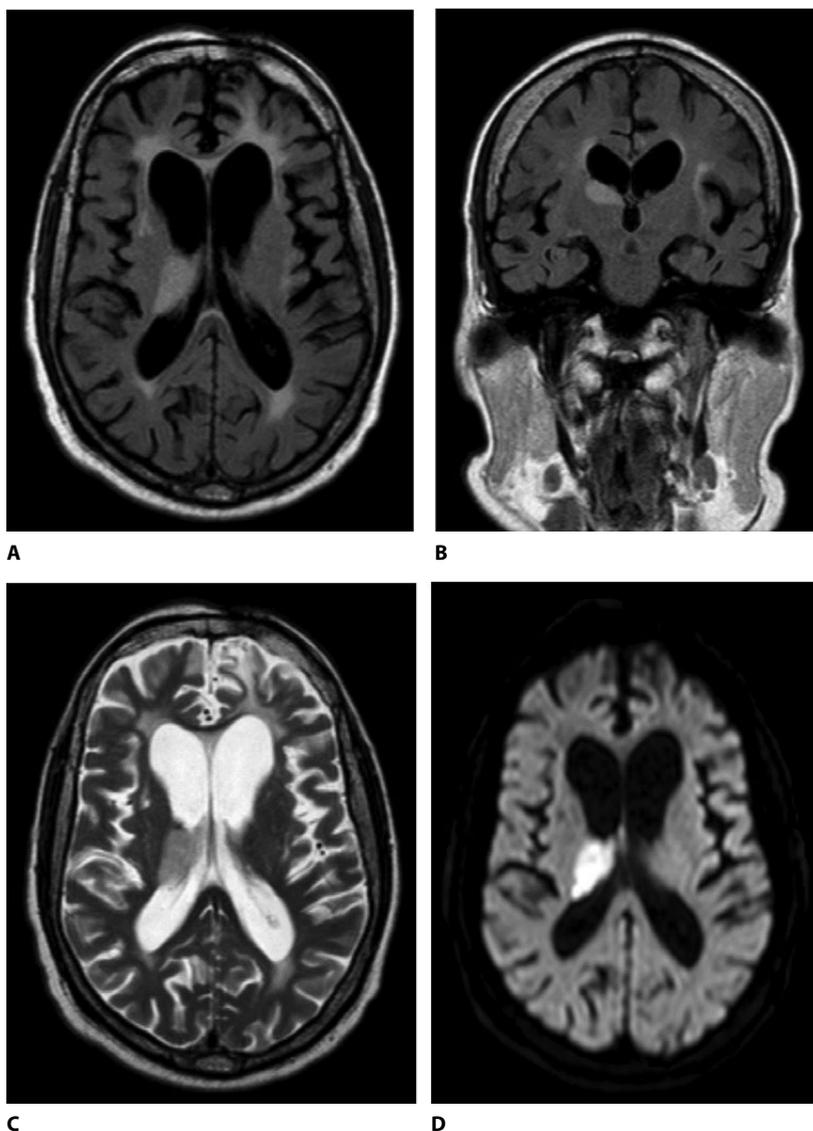


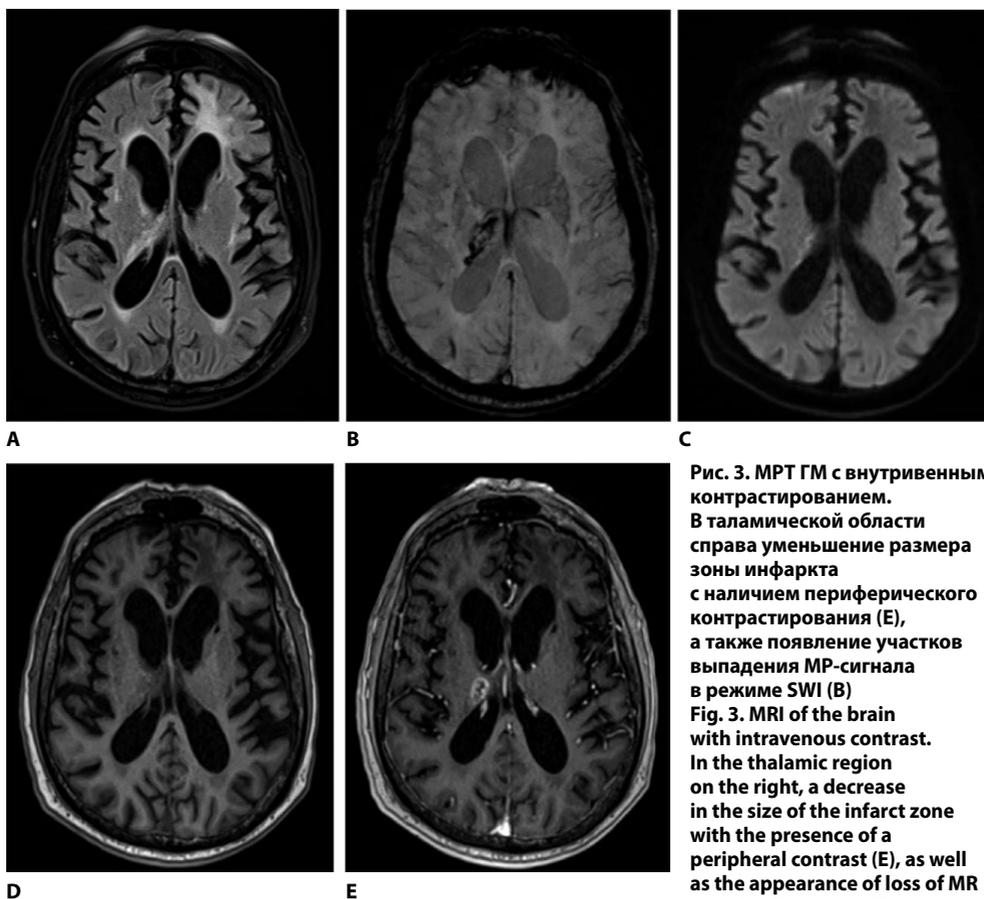
Рис. 2. МРТ ГМ без внутривенного контрастирования. В таламической области справа выявлен изоинтенсивный в режиме T2 (A, B) и гиперинтенсивный на FLAIR (C) участок, ограничивающий диффузию – инфаркт в бассейне задней мозговой артерии
Fig. 2. MRI of the brain with intravenous contrast. In the thalamic region on the right, an isointense T2 (A, B) and a hyperintense FLAIR (C) area was detected that limits diffusion – the area of infarction in the posterior cerebral artery basin

После госпитализации была выполнена МРТ ГМ (рис. 2). Внутривенное контрастирование не было проведено в связи с ухудшением состояния пациента во время исследования. Были выявлены изменения в области таламуса справа, которые необходимо было дифференцировать между рецидивом лимфомы и инфарктом мозга.

Сложности в диагностике возникли в связи с отсутствием введения контрастного вещества, так как гомогенное контрастирование было бы характерно для лимфомы, однако не наблюдалось при инфаркте мозга на данном сроке. Локализация изменений в таламической области была характерна как для лимфомы, так и для инфаркта мозга в бассейне задней мозговой артерии. Ограничение диффузии также не являлось фактором исключения одной из патологий ввиду того, что она характерна и для лимфомы, и для ишемии на данном сроке. Однако несмотря на присутствие в анамнезе ПЛЦНС, с учетом отсутствия перифокального отека и масс-эффекта, а также гиперинтенсивного сигнала в режиме FLAIR (fluid attenuation inversion recovery) было сформировано заключение об инфаркте в бассейне задней мозговой артерии.

С учетом анамнеза в дополнение к обследованию была выполнена КТ ОГК, ОБП, ОМТ: данных за лимфаденопатию, метастатическое поражение внутренних органов нет.

В феврале 2024 г. проведена МРТ ГМ с внутривенным контрастированием (рис. 3), по результатам которой было выявлено уменьшение зоны ишемии в таламической



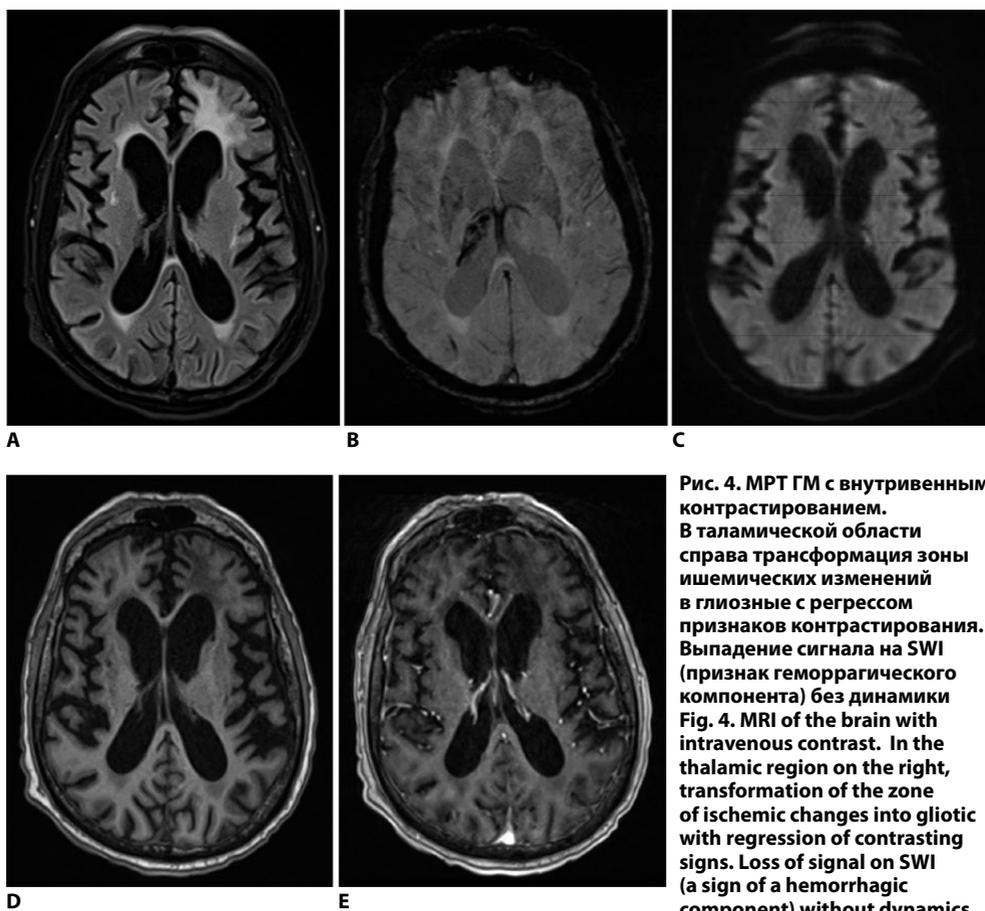


Рис. 4. МРТ ГМ с внутривенным контрастированием. В таламической области справа трансформация зоны ишемических изменений в глиозные с регрессом признаков контрастирования. Выпадение сигнала на SWI (признак геморрагического компонента) без динамики Fig. 4. MRI of the brain with intravenous contrast. In the thalamic region on the right, transformation of the zone of ischemic changes into gliotic with regression of contrasting signs. Loss of signal on SWI (a sign of a hemorrhagic component) without dynamics

области справа с признаками контрастирования по периферии и появлением в режиме SWI (susceptibility weighted imaging) участков геморрагического пропитывания в структуре.

Клинически состояние пациента улучшилось, восстановились моторные функции, начал самостоятельно передвигаться.

В марте 2024 г. пациенту была выполнена МРТ головного мозга (рис. 4), по результатам которой отмечалась трансформация зоны ишемических изменений в глиозные, с регрессом ранее выявленных признаков контрастирования и сохранением геморрагического пропитывания в таламической области справа.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

ПЛЦНС обычно проявляется одиночным или множественными (30–35%) патологическими участками, располагающимися супратенториально (>80%), локализуясь чаще в базальных ядрах, таламусе, мозолистом теле (~45%), также часто встречается в полушариях головного мозга (40%), редко – в задней черепной ямке [6].

Типичная КТ-картина первичной лимфомы центральной нервной системы с поражением головного мозга включает в себя очаговые образования умеренно повышенной плотности (по сравнению с интактным белым веществом мозга), выраженно накапливающие контрастный препарат, с наличием перифокального отека [7]. В нашем клиническом случае изменения у пациента при исследовании в 2019 г. полностью соответствовали данным критериям.

Магнитно-резонансная (МР) картина первичной лимфомы ЦНС достаточно вариабельна и зависит от иммунного статуса пациента. Так, визуализация лимфомы у иммунокомпетентных и иммунокомпрометированных лиц имеет ряд отличий, которые представлены в таблице [8].

Также следует отметить, что МР-картина ПЛЦНС существенно изменяется в ответ на проведенное лечение [9]. В частности, после проведения стероидной терапии у иммунокомпетентных пациентов накопление контрастного препарата в очагах лимфомы может иметь гетерогенный характер. В ответ на химиотерапию и лучевую терапию достаточно быстро наступает регресс опухолевого поражения [10].

В представленном клиническом случае проводилась дифференциальная диагностика рецидива ПЛЦНС и инфаркта мозга.

Несмотря на различия патогенеза и клинической картины лимфомы и инфаркта головного мозга, их лучевые признаки имеют ряд схожих черт.

В данном случае в пользу лимфомы свидетельствовало наличие ПЛЦНС в анамнезе, характерная локализация в области таламуса, изоинтенсивный МР-сигнал

Разница МР-признаков ПЛЦНС у иммунокомпетентных и иммунокомпрометированных пациентов

Differences in MR signs of PCNSL in immunocompetent and immunocompromised patients

Импульсная последовательность МРТ	Имунокомпетентные пациенты	Имунокомпрометированные пациенты
T1-ВИ (T1-взвешенные изображения)	гомогенный изо-/гипоинтенсивный по отношению к коре сигнал	– гомогенный изо-/гипоинтенсивный по отношению к коре сигнал; – возможна гетерогенность сигнала, обусловленная геморрагическим, некротическим компонентами
T2-ВИ (T2-взвешенные изображения)	– гомогенный изо-/гипоинтенсивный по отношению к коре сигнал; – обычно наблюдается умеренный перифокальный отек	– гомогенный изо-/гипоинтенсивный по отношению к коре сигнал; – возможна гетерогенность сигнала, обусловленная геморрагическим, некротическим компонентами; – редко может наблюдаться Са++, обычно после лечения; – обычно наблюдается умеренный перифокальный отек
Режим FLAIR	гомогенный изо-/гипоинтенсивный сигнал	гомогенный изо-/гипоинтенсивный сигнал
Режим DWI (diffusion-weighted imaging)	ограничение диффузии	ограничение диффузии
Режим SWI	–	продукты распада крови или кальциаты наблюдаются в виде участков выцветания изображения
Постконтрастные T1-ВИ	интенсивный гомогенный характер контрастирования	периферический характер контрастирования с участками центрального некроза или гомогенный характер контрастирования



в режиме T2-ВИ, а также ограничение диффузии. Эти же признаки выявляются и при инфаркте в раннем подостром периоде.

В первую очередь при проведении дифференциальной диагностики с инфарктом головного мозга необходимо установить соответствие с бассейном кровоснабжения. В данном случае зона изменений четко соответствовала бассейну правой задней мозговой артерии. Анализ сигнальных характеристик следует сопоставлять со сроками клинической картины. Так, первая МРТ пациенту была выполнена на 4-й день после появления симптоматики. При этом отмечался изоинтенсивный сигнал на T2-ВИ и ограничение диффузии, что может наблюдаться как при лимфоме, так и при инфаркте. Однако выявленные изменения имели гиперинтенсивный сигнал в режиме FLAIR, что мало характерно для лимфомы ввиду ее высокой клеточности [11]. Также отмечалось отсутствие перифокального отека и масс-эффекта.

С учетом вышесказанного выявленные изменения трактовали как картину инфаркта мозга. При проведении повторного исследования регресс признаков ограничения диффузии, появление участков геморрагического пропитывания и неоднородного контрастирования укладывались в картину эволюции ишемических изменений. Уменьшение зоны изменения сигнала на T2-ВИ и режиме FLAIR с учетом отсутствия противоопухолевого лечения также подтвердило диагноз.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Роль лучевой диагностики – одна из наиболее важных в постановке диагноза ПЛЦНС. Ввиду наличия специфического лечения именно ранняя диагностика с помощью методов нейровизуализации является основополагающей в дальнейшем исходе данного заболевания, так как прогноз зависит от скорости постановки диагноза.

Ряд патогномичных радиологических характеристик ПЛЦНС, таких как ограничение диффузии и понижение МР-сигнала на T2-ВИ и в режиме FLAIR, а также характерное перивентрикулярное расположение могут помочь в постановке правильного диагноза. Однако не стоит забывать о необходимости сопоставления радиологической картины с данными анамнеза, клинической картиной и проведенным лечением.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Louis DN, Perry A, Wesseling P, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol.* 2021;23(8):1231–1251. doi: 10.1093/neuonc/noab106
2. Kryukov EV, Troyan VN, Rukavitsyn OA, et al. A complex of methods of radiation diagnostics in a patient with multiple myeloma (clinical case). *Medical Visualization.* 2020;24(4):133–145. doi: 10.24835/1607-0763-2020-4-133-145. (in Russian)
3. Rubenstein J, Ferreri AJ, Pittaluga S. Primary lymphoma of the central nervous system: epidemiology, pathology and current approaches to diagnosis, prognosis and treatment. *Leuk Lymphoma.* 2008;49(suppl.1):43–51. doi: 10.1080/10428190802311441
4. Bataille B, Delwail V, Menet E, et al. Primary intracerebral malignant lymphoma: report of 248 cases. *J Neurosurg.* 2000;92(2):261–266. doi: 10.3171/jns.2000.92.2.0261
5. Ferreri AJM, Calimeri T, Cwynarski K, et al. Primary central nervous system lymphoma. *Nat Rev Dis Primers.* 2023;9(1):29. doi: 10.1038/s41572-023-00439-0
6. Hoang-Xuan K, Deckert M, Ferreri AJM, et al. European Association of Neuro-Oncology (EANO) guidelines for treatment of primary central nervous system lymphoma (PCNSL). *Neuro Oncol.* 2023;25(1):37–53. doi: 10.1093/neuonc/noac196
7. Pons-Escoda A, Naval-Baudin P, Velasco R, et al. Imaging of Lymphomas Involving the CNS: An Update-Review of the Full Spectrum of Disease with an Emphasis on the World Health Organization Classifications of CNS Tumors 2021 and Hematolymphoid Tumors 2022. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2023;44(4):358–366. doi: 10.3174/ajnr.A7795
8. Kwok HM, Li KY, Chan RLS, et al. Different facets of intracranial central nervous system lymphoma and its imaging mimics. *J Clin Imaging Sci.* 2022;12:4. doi: 10.25259/JCIS_135_2021
9. Minenko SV, Larina YuV, Ptushkin VV, et al. Treatment of central nervous system lymphoma – literature review and own experiences. *Oncohematology.* 2011;6(3):50–56. doi: 10.17650/1818-8346-2011-6-3-50-56. (in Russian)
10. Gubkin A, Zvonkov E, Kremetskaya A, et al. Primary central nervous system lymphomas. *Clinical oncohematology.* 2008;1(3):323–332. (in Russian)
11. Capasso R, Negro A, Russo C, et al. Conventional and Advanced MRI Techniques in the Evaluation of Primary CNS Lymphoma. *Semin Ultrasound CT MR.* 2023;44(3):126–135. doi: 10.1053/j.sult.2023.02.003



Бегун И.В.✉, Минаковская Н.В., Пролесковская И.В., Шиманский А.Т., Шутова А.А.
Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии
и иммунологии, Минск, Беларусь

Случай диагностики успешно излеченной веноокклюзионной болезни печени у ребенка с нейробластомой после тандемной трансплантации аутологичных стволовых клеток

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Бегун И.В. – концепция и дизайн, написание текста; Минаковская Н.В. – концепция, редактирование; Пролесковская И.В. – концепция, редактирование; Шиманский А.Т. – редактирование; Шутова А.А. – сбор и обработка данных.

Подана: 20.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: begun_igor@mail.ru

Резюме

В статье рассматривается и иллюстрируется случай диагностики успешно излеченной веноокклюзионной болезни печени у ребенка с нейробластомой после трансплантации аутологичных стволовых клеток. Представлена клиническая характеристика веноокклюзионной болезни печени, процедура ультразвукового исследования в мультимодальном исполнении, определяющая приоритетные для визуализирующих методов возможности диагностики данного заболевания.

Ключевые слова: ребенок, нейробластома, трансплантация аутологичных стволовых клеток, веноокклюзионная болезнь печени, ультразвуковое исследование, эластография



Begun I. ✉, Minakovskaya N., Proleskovskaya I., Shimanskii A., Shutova A.
Republican Scientific Centre for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,
Minsk, Belarus

A Case of Diagnosis of Cured Hepatic Veno-Occlusive Disease in a Child with Neuroblastoma after Tandem Autologous Stem Cell Transplantation

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Begun I. – concept and design, writing the text; Minakovskaya N. – concept, editing; Proleskovskaya I. – concept, editing; Shimanskii A. – editing; Shutova A. – data collection and processing.

Submitted: 20.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: begun_igor@mail.ru

Abstract

In the article discusses and illustrates a case of diagnosing successfully treated veno-occlusive liver disease in a child with neuroblastoma after autologous stem cell transplantation. The clinical characteristics of veno-occlusive liver disease and the multimodal ultrasound examination procedure, which determines the priority diagnostic capabilities of this disease for imaging methods, are presented.

Keywords: child, neuroblastoma, autologous stem cell transplantation, veno-occlusive liver disease, ultrasound examination, elastography

■ ВВЕДЕНИЕ

Веноокклюзионная болезнь печени (ВОБ), также называемая синусоидальным обструктивным синдромом (СОС), – грозное осложнение трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у детей и взрослых со злокачественными новообразованиями [1]. Заболеваемость варьируется в зависимости от используемых диагностических критериев, опыта центра, пациентов и типа ТГСК, составляя 2–14% [2–5]. В более поздних работах значения заболеваемости ВОБ/СОС в педиатрической популяции находятся в диапазоне 5–20% (5,3–13,7% у взрослых) [1, 6–11]. Несмотря на тот факт, что большинство случаев ВОБ разрешаются спонтанно, случаи, которые перерастают в полиорганную недостаточность (это более 20–30% больных детей), имеют уровень смертности выше 80–85% и представляют собой одну из основных клинических проблем после ТГСК [1, 7, 12–16].

В патогенезе синусоидальной обструкции при ВОБ/СОС решающую роль играет высокодозная алкилирующая химиотерапия, инициирующая повреждение синусоидного эндотелия печени, что в конечном итоге приводит к портальной гипертензии [17, 18]. В исследовании Schechter et al. [19] показано, что ВОБ/СОС печени проявляется у детей в среднем на день 19-й (14–27) после ТГСК. По данным других авторов, в среднем день диагностики ВОБ/СОС был 17-й (центильный диапазон 11–29 дней) и около 10% случаев возникали после 30-го дня [20]. Клиническая картина ВОБ печени включает гепатомегалию, асцит, увеличение веса и отклонения

лабораторных показателей, связанных с печеночной дисфункцией. Возможны проявления полиорганной недостаточности: плевральный выпот / легочные инфильтраты, почечная, сердечная и легочная недостаточность, неврологические симптомы (энцефалопатия, кома) [21]. Для диагностики ВОБ/СОС исторически используются модифицируемые клинические критерии из шкал Балтимора, Сиэтла и Европейского общества трансплантации крови и костного мозга (ЕВМТ) [22, 23].

В настоящее время нейробластому высокого риска лечат с помощью высокодозной химиотерапии и аутологичной ТГСК, обычно после кондиционирования бусульфаном/мелфаланом. Ряд авторов показывают высокую зарегистрированную частоту ВОБ/СОС у детей с нейробластомой после аутологичной ТГСК – 15–30% [5, 24–28]. При этом, несмотря на использование внутривенного бусульфана с отрегулированными уровнями в сыворотке, частота ВОБ/СОС у детей с нейробластомой остается высокой [19].

Клинический случай

Приводим клиническое наблюдение случая ВОБ печени у ребенка с нейробластомой после повторной трансплантации аутологичных стволовых клеток (ауто-ТГСК). Пациентка, 3,5 года, с большой (около 400 см³) забрюшинной низкодифференцированной нейробластомой, распространяющейся в спинномозговой канал, с вовлечением брюшной аорты и ветвей, поражением костей черепа, шейных, ключичных, медиастинальных, ретрокруральных лимфоузлов, костного мозга (рис. 1).



Рис. 1. Компьютерная томограмма пациентки (поперечный срез). В забрюшинном пространстве срединно неправильной формы массивное объемное образование в конгломерате с пораженными ретрокруральными лимфатическими узлами, общим размером 99×60×135 мм, с достаточно четкими, но неровными бугристыми наружными контурами, неомогенной мягкотканной плотности, с вовлечением брюшной аорты, чревного ствола, верхней брыжеечной артерии. Образование распространяется от диафрагмы и ниже в полость малого таза, дислоцируя дно мочевого пузыря

Fig. 1. Computer tomogram of the patient (cross-section). In the retroperitoneal space, a massive volumetric formation of irregular shape in the median in a conglomerate with affected retrocrural lymph nodes, with a total size of 99×60×135 mm, with fairly clear but uneven tuberous external contours, non-homogeneous soft tissue density, with the involvement of the abdominal aorta, celiac trunk, superior mesenteric artery. The formation extends from the diaphragm and below into the pelvic cavity, dislocating the bottom of the bladder



Получала лечение по протоколу NBL-HR-2018 с 2018 года. В марте 2019 г. – хирургическое удаление опухоли, а спустя 1,5 месяца в возрасте 4,5 года проведена тандемная ТГСК: ауто-ТГСК № 1, через 3 месяца ауто-ТГСК № 2. При первой ТГСК в качестве кондиционирования применялась высокодозная тактика, для второй – Ви-Mel (бусульфан, мелфолан). Принималось во внимание то, что при использовании бусульфана для кондиционирования у детей значительно повышен риск возникновения ВОБ/СОС.

К 13-му дню после повторной ауто-ТГСК уровень прогрессивно снижающихся тромбоцитов составил $22 \times 10^9/\text{л}$. Отмечались лихорадка, увеличение веса, признаки асцита и гепатомегалии, сниженный диурез. На 17-й день были выявлены изменения в биохимическом анализе крови: снижение уровня креатинина до 25 ммоль/л, повышенные значения АЛТ – 150 МЕ/л, АСТ – 184 МЕ/л, СРБ – 4,54 мг/дл. Уровень тромбоцитов составил $38 \times 10^9/\text{л}$. Из показателей свертывания крови обращало на себя внимание снижение активности факторов протромбинового комплекса (63%), повышение концентрации D-димеров (16,2 мкг/мл). Серологические анализы на гепатит и цитомегаловирус дали отрицательные результаты. По результатам комплексного УЗИ определялись увеличение печени (+1,5 см), утолщение стенки желчного пузыря (6–7 мм), асцит (однородная жидкость в брюшной полости и в полости малого таза до 1,2 литра), монофазный тип кровотока в печеночных венах, снижение скорости и дыхательной вариабельности кровотока воротной вены, увеличенные значения индекса резистентности в главной печеночной артерии (0,89), высокие значения скорости сдвиговой волны (1,83–2,14 м/с) в паренхиме печени. По совокупности симптомов пациентке выставляется клинично-инструментальный диагноз безжелтушной формы ВОБ, начата терапия гепарином. На 21/22-й день в динамике снизились показатели цитолиза – АЛТ 69 МЕ/л и АСТ 56 МЕ/л, нормализовался СРБ (0,2 мг/дл) и уровень креатинина (37 ммоль/л). Уровень тромбоцитов составил $23 \times 10^9/\text{л}$. Определялось дальнейшее снижение активности факторов протромбинового комплекса (54%), сохранялась повышенная концентрация D-димеров (14,9 мкг/мл). Отмечалась отрицательная динамика по данным УЗИ: увеличение печени, отек стенки желчного пузыря, нарастающий асцит, гепатофугальный кровоток в воротной вене, эластометрия показала максимальные значения скорости сдвиговой волны в паренхиме печени (до 2,80 м/с) (рис. 2, 3).

Пациентку перевели на низкомолекулярный гепарин (фрагмин). К 35-му дню у нее развился респираторный дистресс, снизилась сатурация кислорода, что сопровождалось учащенным дыханием и тахикардией. Был перевод в отделение реанимации. Получала антибиотики, малые дозы дофамина, альбумин и диуретики. По данным серийных лабораторных исследований билирубин не повышался. Наблюдала динамику ультразвуковой картины: несмотря на увеличение размеров печени (+3 см) и изменение ее эхоструктуры отмечали некоторое снижение скорости сдвиговой волны для ее паренхимы (до 2,53 м/с). Кровоток в воротной вене принял гепатопетальное направление, уменьшился отек стенки желчного пузыря и объем выпота в брюшной полости. Сохранялась тромбоцитопения ($17 \times 10^9/\text{л}$). На 62-й день был назначен дефибротид (25 мг/кг/день). На 72-й день выполнено контрольное ультразвуковое исследование. Сохранялись доплерографические признаки пост-синусоидальной портальной гипертензии, но отмечено снижение скорости сдвиговой волны при эластометрии до 1,53 м/с. Терапию дефибротидом продолжили.



Рис. 2. Сонограммы пациентки в период развернутых клинических проявлений ВОБ/СОС (21-й день после ТГСК): а – асцит (скопление жидкости в правой подвздошной области); б – монофазный кровоток по печеночной вене; с – увеличение максимальной линейной скорости кровотока по собственной печеночной артерии и резистентности циркуляторного русла в ее бассейне (RI – 0,76); д – отек стенки желчного пузыря; е – увеличение скорости сдвиговой волны в ткани печени (1,93–2,23 м/сек)

Fig. 2. Sonograms of the patient in the period of advanced clinical manifestations of VOD/SOS (21st day after HSCT): а – ascites (fluid accumulation in the right iliac region); б – monophasic blood flow in the hepatic vein; с – increase in the maximum linear blood flow velocity in the proper hepatic artery and the resistance of the circulatory bed in its basin (RI – 0.76); д – edema of the gallbladder wall; е – increase in the shear wave velocity in the liver tissue (1.93–2.23 m/sec)



Рис. 3. Сонограммы пациентки в период развернутых клинических проявлений ВОБ/СОС (22-й день после ТГСК): а – увеличение максимальной линейной скорости кровотока по собственной печеночной артерии и резистентности циркуляторного русла в ее бассейне (RI – 0,89); б – ретроградный кровоток по портальной вене в режиме цветового доплера; с – гепатомегалия и асцит (скопление жидкости вокруг печени); д – ретроградный кровоток по портальной вене в режиме импульсно-волнового доплера; е – увеличение скорости сдвиговой волны в ткани печени (до 2,8 м/сек)

Fig. 3. Sonograms of the patient in the period of advanced clinical manifestations of VOD/SOS (22nd day after HSCT): а – increase in the maximum linear blood flow velocity in the proper hepatic artery and the resistance of the circulatory bed in its pool (RI – 0.89); б – retrograde blood flow in the portal vein in color Doppler mode; с – hepatomegaly and ascites (fluid accumulation around the liver); д – retrograde blood flow in the portal vein in pulsed wave Doppler mode; е – increase in the shear wave velocity in the liver tissue (up to 2.8 m/sec)

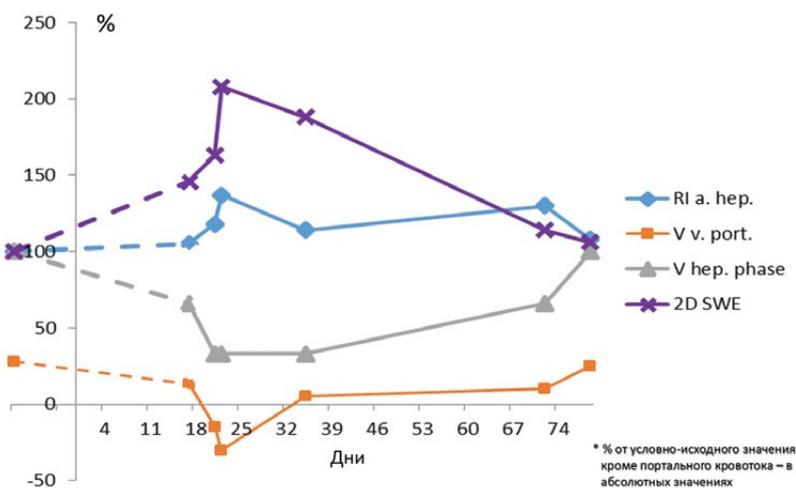


Рис. 4. Динамика сонографических показателей по гемодинамическим критериям и скорости сдвиговой волны (RI a. hep. – индекс резистентности для главной печеночной артерии; V v. port. – скорость кровотока по портальной вене; V hep. phase – фазы кровотока в печеночных венах; 2D SWE – скорость сдвиговой волны по данным двухмерной эластографии)
Fig. 4. Dynamics of sonographic parameters according to hemodynamic criteria and shear wave velocity (RI a. hep. – resistance index for the main hepatic artery; V v. port. – blood flow velocity in the portal vein; V hep. phase – blood flow phases in the hepatic veins; 2D SWE – shear wave velocity according to two-dimensional elastography data)

На 79-й день определялись улучшенные доплерографические показатели: полифазный спектр кровотока в печеночных венах, нормальный индекс резистентности для главной печеночной артерии, дыхательные модуляции кровотока в воротной вене. Вырос уровень тромбоцитов ($103 \times 10^9/\text{л}$). Динамика сонографических показателей показана на рис. 4.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Нейробластома – наиболее распространенная экстракраниальная солидная опухоль, встречающаяся у пациентов детского возраста. Нейробластома высокого риска (HR-NBL) для пациентов характеризуется неблагоприятным прогнозом. Стандарт лечения включает индукционную химиотерапию, хирургическое вмешательство с последующей ТГСК. В нашем случае была повторная ауто-ТГСК, что, помимо таких факторов, как женский пол и нозологическая форма, само по себе являлось фактором риска развития ВОБ/СОС. С учетом массивного поражения костного мозга атипичными клетками в период индукции у пациентки применялась многократная трансфузия эритроцитарной массы, что явилось возможной причиной перегрузки железом. Как важный фактор риска рассматривалось применение бусульфана для кондиционирования (у пациентки велся лабораторный мониторинг его концентрации в крови). Сочетание клинико-anamnestических особенностей и данных инструментальных исследований побудило нас задуматься о ВОБ/СОС. Диагноз ранней ВОБ печени тяжелой степени устанавливался по результативным критериям ЕВМТ

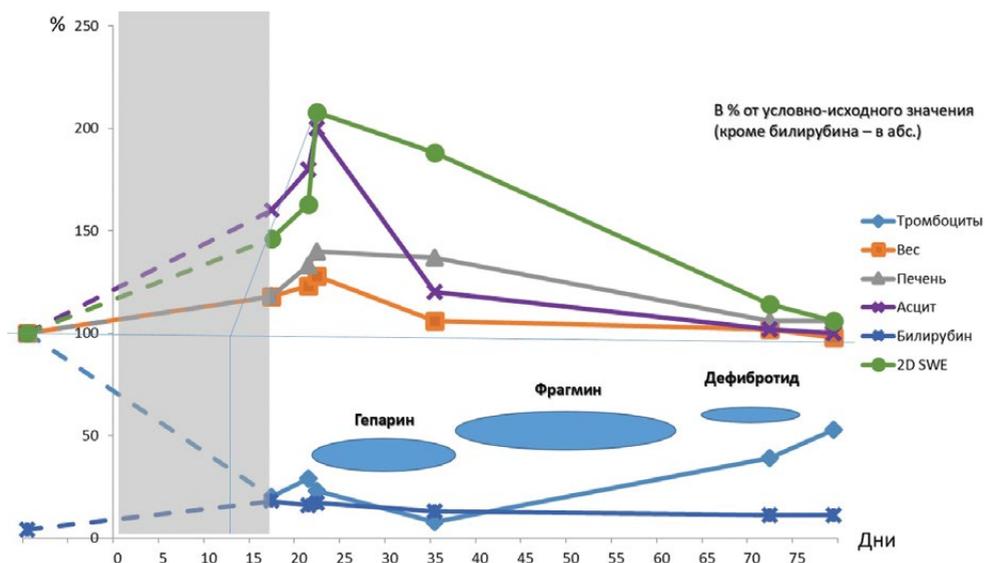


Рис. 5. Динамика показателей по клиническим критериям ВОБ (ЕВМТ) и скорости сдвиговой волны в печени (2D SWE – скорость сдвиговой волны по данным двумерной эластографии)
Fig. 5. Dynamics of indicators according to clinical criteria of EBMT and shear wave velocity in the liver (2D SWE – shear wave velocity according to two-dimensional elastography data)

(рефрактерная тромбоцитопения, асцит, увеличение печени, прирост массы тела) и ультразвуковым критериям HokUS (увеличение размеров печени, утолщение стенки желчного пузыря, монофазный тип кровотока в печеночных венах, повышение индекса резистентности в печеночной артерии, снижение скорости и дыхательной модуляции кровотока в воротной вене, асцит). Кроме того, принимался во внимание такой перспективный показатель, как скорость сдвиговой волны в ткани печени. Изменение его величины наиболее показательно отражало фазы заболевания, течение которого имело градации от средней тяжести до тяжелого (рис. 5). Было назначено лечение гепарином, а затем дефибротидом. Пациентка отреагировала на лечение и была выписана в хорошем общем состоянии.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для диагностики ВОБ/СОС в настоящее время используются клинические диагностические критерии, такие как системы Балтимора, Сизтла и ЕВМТ (см. таблицу).

Официальные критерии по диагностике ВОБ у взрослых помимо клинических включают ультразвуковое исследование и/или эластографию [29]. У детей для диагностики ВОБ использование визуализирующих методов носит лишь рекомендательный характер констатации/подтверждения динамики изменения асцита и гепатомегалии [22].

Однако ожидание соответствия пациентов диагностическим критериям может помешать раннему вмешательству или привести к пропуску диагноза из-за неясных симптомов либо несоответствия строгим лабораторным установкам. Поэтому



**Диагностические критерии ВОБ (Corbacioglu S. et al., 2018; Ichikawa H. et al., 2024)
Diagnostic criteria for VOD (Corbacioglu S. et al., 2018; Ichikawa H. et al., 2024)**

Диагностические критерии ВОБ у детей (EBMT, 2018) Сняты ограничения по времени начала ВОБ/СОС	Диагностические критерии ВОБ у взрослых (EBMT, 2023)
Решающее правило: при наличии двух или более из следующих признаков^а	
Необъяснимая коагулопатия потребления и рефрактерная к переливаниям тромбоцитопения ^б	Ультразвуковое исследование и/или эластография*
Необъяснимое увеличение веса в течение трех последовательных дней, несмотря на прием диуретиков, или увеличение веса более чем на 5% по сравнению с исходным значением	Увеличение веса >5%
^с Гепатомегалия (лучше всего, если подтверждена визуализацией) выше исходного значения	Болезненная гепатомегалия
^с Асцит (лучше всего, если он подтвержден визуализацией) выше исходного значения	Асцит
Повышение уровня билирубина от исходного значения в течение 3 последовательных дней или билирубин ≥ 2 мг/дл в течение 72 часов	Билирубин ≥ 2 мг/дл

Примечания: ^а исключая другие потенциальные дифференциальные диагнозы; ^б ≥ 1 замещения тромбоцитов с поправкой на вес в день; ^с рекомендуется визуализация (УЗИ, КТ или МРТ) непосредственно перед ТГСК для определения исходных значений; * результаты УЗИ и/или эластографии, указывающие на ВОБ/СОС, были определены как положительная оценка NokUS-6 и/или ELASTOVOD.

существует необходимость в ранних прогностических количественных параметрах для мониторинга пациентов на предмет ВОБ/СОС после ТГСК. Информативность рутинных сонографических показателей в дополнительной и уточняющей диагностике ВОБ подтверждается многочисленными исследованиями [30–34].

Также в исследовательских работах по ВОБ/СОС все чаще проводят сравнительную оценку эффективности относительно новой модальности ультразвуковой диагностики – эластометрии [7, 10, 35–38].

Принципы изменения скорости сдвиговой волны при диффузных заболеваниях печени, сопоставимые с таковыми при ВОБ печени, позволяют использовать этот показатель в алгоритме первичной диагностики ВОБ/СОС и для мониторинга реакции на лечение во время последующих наблюдений [39–41].

В нашей клинике рутинное серошкальное УЗИ, триплексное сканирование и эластометрия наряду с клиническими данными используются для диагностики и мониторинга ответа на терапию ВОБ/СОС. У пациентов из группы риска развития ВОБ/СОС базовое УЗИ с расширенным использованием модальностей диагностического ультразвука перед трансплантацией рассматривается в качестве ориентира для будущих отклонений.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Cairo M.S., Cooke K.R., Lazarus H.M. et al. Modified diagnostic criteria, grading classification and newly elucidated pathophysiology of hepatic SOS/VOD after haematopoietic cell transplantation. *Br J Haematol.* 2020;190:822–836.
2. Carreras E., Bertz H., Arcese W. Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party. *Blood.* 1998;92(3):599–604.
3. Coppel J.A., Richardson P.G., Soiffer R. et al. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16(1):57–68.

- Carreras E, Diaz-Beya M, Rosinol L et al. The incidence of veno-occlusive disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation has diminished and the outcome improved over the last decade. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17(11):1713–1720.
- Corbacioglu S, Cesaro S, Faraci M et al. Defibrotide for prophylaxis of hepatic veno-occlusive disease in paediatric haemopoietic stem-cell transplantation: an open-label, phase 3, randomized controlled trial. *Lancet.* 2012;379:1301–1309.
- Bazrabachi A.H., Hamed R., Labopin M. et al. Underdiagnosed veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome (VOD/SOS) as a major cause of multi-organ failure in acute leukemia transplant patients: An analysis from the EBMT Acute Leukemia Working Party. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56:917–927.
- Bonifazi F, Barbato F, Ravaoli F et al. Diagnosis and Treatment of VOD/SOS After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front. Immunol.* 2020;11:489.
- Richardson P, Aggarwal S, Topaloglu O et al. Systematic review of defibrotide studies in the treatment of veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome (VOD/SOS). *Bone Marrow Transplant.* 2019;54:1951–1962.
- Szmi Z, Gorczyńska E, Król A. et al. Introduction of new pediatric EBMT criteria for VOD diagnosis: Is it time-saving or money-wasting?: Prospective evaluation of pediatric EBMT criteria for VOD. *Bone Marrow Transplant.* 2020;55:2138–2146.
- Dhir A, Wadhwa A, Haines H. et al. Retrospective Application of Sinusoidal Obstruction Syndrome/Veno-occlusive Disease Diagnostic Criteria in a Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplant Cohort. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2022;44:343–348.
- Yoon J.H., Choi C.W., Won J.H. Hepatic sinusoidal obstruction syndrome/ veno-occlusive disease after hematopoietic cell transplantation: Historical and current considerations in Korea. *Korean J. Intern. Med.* 2021;36:1261–1280.
- Richardson P.G., Riches M.L., Kernan N.A. et al. Phase 3 trial of defibrotide for the treatment of severe veno-occlusive disease and multi-organ failure. *Blood.* 2016;3(13):1656–1665.
- Carreras E, How I. Manage sinusoidal obstruction syndrome after haematopoietic cell transplantation. *Br J Haematol.* 2015;168(4):481–491.
- Mahadeo K.M., Bajwa R., Abdel-Aziz et al. Diagnosis, grading, and treatment recommendations for children, adolescents, and young adults with sinusoidal obstructive syndrome: An international expert position statement. *Lancet Haematol.* 2020;7:e61–72.
- Corbacioglu S, Jabbour E.J., Mohty M. Risk Factors for Development of and Progression of Hepatic Veno-Occlusive Disease/Sinusoidal Obstruction Syndrome. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2019;25:1271–1280.
- Richardson P.G., Carreras E, Iacobelli M. et al. The use of defibrotide in blood and marrow transplantation. *Blood Adv.* 2018;2:1495–1509.
- DeLeve L.D., Shulman H.M., McDonald G.B. Toxic injury to hepatic sinusoids: sinusoidal obstruction syndrome (veno-occlusive disease). *Semin Liver Dis.* 2002;22:27–42.
- Barker C.C., Butzner J.D., Anderson R.A. et al. Incidence, survival and risk factors for the development of veno-occlusive disease in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32:79–87.
- Schechter T., Perez-Albuera E, Lin T.F. et al. Veno-occlusive disease after high-dose busulfan-melphalan in neuroblastoma. *Bone Marrow Transplant.* 2020;55:531–537.
- Faraci G.M., Bertaina A., Luksch R. et al. Sinusoidal Obstruction Syndrome/Veno-Occlusive Disease after Autologous or Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children: a retrospective study of the Italian Hematology-Oncology Association Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25:313–320.
- Akil A., Zhang Q., Mumaw C.L. et al. Biomarkers for Diagnosis and Prognosis of Sinusoidal Obstruction Syndrome after Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21:1739–1745.
- Corbacioglu S., Carreras E., Ansari M. et al. Diagnosis and severity criteria for sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease in pediatric patients: a new classification from the European society for blood and marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2018;53:138–145.
- Ruutu T., Carreras E. Hepatic Complications. In: Carreras E, Dufour C., Mohty M., Kröger N. (eds) *The EBMT Handbook. 7th edition.* Germany: Springer. 2019.
- Füsová M., Švec P., Horáková J. et al. The Importance of New EBMT Criteria on the Diagnosis of Veno-Occlusive Liver Disease in Children. *Journal of Clinical Medicine.* 2023;12(3):826.
- Cesaro S., Pillon M., Talenti E. et al. A prospective survey on incidence, risk factors and therapy of hepatic veno-occlusive disease in children after hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica.* 2005;90:1396–1404.
- Veal G.J., Nguyen L., Paci A. et al. Busulfan pharmacokinetics following intravenous and oral dosing regimens in children receiving high-dose myeloablative chemotherapy for high-risk neuroblastoma as part of the HR-NBL-1/SIOPEN trial. *Eur J Cancer.* 2012;48:3063–3072.
- Horn B., Reiss U., Matthay K. et al. Veno-occlusive disease of the liver in children with solid tumors undergoing autologous hematopoietic progenitor cell transplantation: a high incidence in patients with neuroblastoma. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29:409–415.
- Qayed M., Chiang K.Y., Ricketts R. et al. Tandem stem cell rescue as consolidation therapy for high-risk neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer.* 2012;58:448–452.
- Ichikawa H., Yakushijin K., Kurata K. et al. Utility of the refined EBMT diagnostic and severity criteria 2023 for sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease. *Bone Marrow Transplant.* 2024;59:518–525.
- Lassau N., Leclère J., Auperin A. et al. Hepatic veno-occlusive disease after myeloablative treatment and bone marrow transplantation: value of gray-scale and Doppler US in 100 patients. *Radiology.* 1997;204:545–552.
- Lassau N., Auperin A., Leclère J. et al. Prognostic value of doppler-ultrasonography in hepatic veno-occlusive disease: A Study of 71 Children. *Transplantation.* 2002;74(1):60–66.
- Nishida M., Kahata K., Hayase E. et al. Novel Ultrasonographic Scoring System of Sinusoidal Obstruction Syndrome after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2018;24(9):1896–1900.
- Nishida M., Sugita J., Takahashi S. et al. Refined ultrasonographic criteria for sinusoidal obstruction syndrome after hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2021;114(1):94–101.
- Shiratori S., Okada K., Sugita J. et al. HokUS-10 scoring system predicts the treatment outcome for sinusoidal obstruction syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Sci Rep.* 2023;13:173–174.
- Lazzari L., Marra P., Greco R., et al. Ultrasound elastography techniques for diagnosis and follow-up of hepatic veno-occlusive disease. *Bone Marrow Transplant.* 2019;54(7):1145–1147.
- Schulz M., Vuong L.G., Müller H.P. et al. Shear Wave Elastography in the Detection of Sinusoidal Obstruction Syndrome in Adult Patients Undergoing Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(6):928.
- Bohte A.E., Dierselhuus M.P., van Noesel M.M. et al. Imaging features of hepatic sinusoidal obstruction syndrome or veno-occlusive disease in children. *Pediatr. Radiol.* 2022;52:122–133.
- Özkan S.G., Pata C., Şekuri A., et al. Transient elastography of liver: Could it be a guide for diagnosis and management strategy in hepatic veno-occlusive disease (sinusoidal obstruction syndrome)? *Transfus. Apher. Sci.* 2022;61:103370.
- Ravaoli F., Colecchia A., Alemanni L.V. et al. Role of imaging techniques in liver veno-occlusive disease diagnosis: Recent advances and literature review. *Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2019;13:463–484.
- Chan S.S., Colecchia A., Duarte R.F. et al. Imaging in Hepatic Veno-Occlusive Disease/Sinusoidal Obstruction Syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(10):1770–1779.
- Inoue Y., Saitoh S., Denpo H. et al. Utility of liver stiffness measurement in the diagnosis of sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation. *J Med Ultrason.* 2001;51(2):311–321.



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.4.008>



Жибурт Е.Б.✉, Хамитов Р.Г., Похабов Д.С., Тураева Р.Р., Умаров Г.М., Шалыгин Л.Д.,
Кузьмин Н.С., Мадзаев С.Р., Шестаков Е.А.

Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Новое в трансфузиологии (на конгрессе Международного общества переливания крови в Барселоне)

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: авторы внесли равный вклад в подготовку статьи.

Подана: 19.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: ezhiburt@yandex.ru

Резюме

В статье обобщены материалы 38-го международного конгресса Международного общества переливания крови. Проанализированы данные по организации донорства и службы крови, инфекциям у доноров крови, обеспечению качества компонентов крови, инаktivации патогенов, иммуногематологии, эффективности и безопасности переливания крови, менеджменту крови пациента.

Ключевые слова: трансфузиология, Международное общество переливания крови, донорство, инфекции крови, иммуногематология, переливание крови

Zhiburt E. ✉, Khamitov R., Pokhabov D., Turaeva R., Umarov G., Shalygin L., Kuzmin N.,
Madzaev S., Shestakov E.

National Pirogov Medical Surgical Center, Moscow, Russia

New in Transfusiology (at the Congress of the International Society of Blood Transfusion in Barcelona)

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: the authors made equal contributions to the preparation of the article.

Submitted: 19.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: ezhiburt@yandex.ru

Abstract

The paper summarizes the materials of 38th International Congress of the International Society of Blood Transfusion. The data on the organization of donations and blood service, blood-transmitted infections, ensuring of the quality of blood components, pathogen inactivation, immunohaematology, effectiveness and safety of blood transfusions, patient blood management have been analysed.

Keywords: transfusiology, the International Society of Blood Transfusion, blood donation, blood infection, immunohaematology, blood transfusion

■ ВВЕДЕНИЕ

В июне 2024 г. в Барселоне (Испания) прошел 38-й международный конгресс Международного общества переливания крови. В конгрессе приняли участие 3315 делегатов из 115 стран.

Традиционно среди довольно обширных материалов конгресса [1–21] можно выделить новую информацию по основным проблемам нашей специальности.

■ ОРГАНИЗАЦИЯ СЛУЖБЫ КРОВИ

В Казахстане в 2023 г. по сравнению с 2013 г. количество донаций крови и ее компонентов сократилось на 14,4% и составило 248,7 тыс. Структура донаций изменилась: количество пожертвований крови среди всех донаций увеличилось с 81,3% в 2013 г. до 90,5% в 2023 г., а донаций плазмы снизилось с 15,7 до 0,4% (с 44,5 тыс. до 1 тыс.). Донации тромбоцитов выросли с 3,0 до 9,1% (с 8,6 до 22,7 тыс.). Наблюдается увеличение объема компонентов крови, переданных для клинического применения, на 20,5% по сравнению с 2013 г. Количество компонентов крови, выданных клиникам от одной донации, составило 1,7 в 2023 г. против 1,2 в 2013 г. В Казахстане уровень инактивации патогенов в тромбоцитах достиг 100% в 2018 г. (по сравнению с 61% в 2013 г.) и остается таким же. Уровень лейкофльтрации эритроцитов также составил 100% с 2018 г. (61,4% в 2013 г.). В 2023 г. доля плазмы, прошедшей карантин и инактивацию патогенов, составила 99,4% по сравнению с 70,4% в 2013 г. С 2013 г. скрининг донорской крови осуществляется в 2 этапа – иммунологический скрининг и NAT-тестирование, проводимые с использованием полностью автоматизированных анализаторов закрытого типа, применение которых достигло 100%. С 2022 г. в обязательный скрининг донорской крови добавлены новые маркеры вируса гепатита В – anti-HBcore и anti-HBs [22].

В период COVID-19 многие госпитали начали развивать переливание крови на дому и продолжают практиковать его сейчас. В основном переливают 2 дозы эритроцитов за сеанс [23].

В крупной датской больнице, переливающей 20 000 доз эритроцитов в год, сравнили время доставки персоналом или пневмопочтой. Среднее значение времени доставки составило 17,7 и 15,3 мин для персонала или пневмопочты соответственно (90-й перцентиль: 31 и 27 мин соответственно). Небольшое, но статистически значимое преимущество при доставке с помощью пневмопочты составило в среднем 2 мин 29 с (14%; $p < 0001$) в отношении начала переливания по сравнению с доставкой больничным персоналом [24].

По базе данных здравоохранения Швеции (в исследование были включены 1 999 013 зарегистрированных родов у 1 043 713 женщин, при этом 4,1% из них получали переливание эритроцитов во время любых родов). Установлено, что женщины, которым переливали эритроциты во время родов, подвергались повышенному риску системной красной волчанки и системной склеродермии по сравнению с женщинами, которым не переливали кровь. Никаких доказательств такой связи для неходжкинской лимфомы и ревматоидного артрита обнаружено не было [25].

Тестировали ChatGPT по вопросам переливания крови. В среднем он набрал проходной балл по серии из 31 вопроса о переливании крови, которые были взяты из задач для студентов-медиков Американского общества гематологов. Как потенциальный учебный ресурс для студентов-медиков ChatGPT очень часто давал ответы



поверхностные, расплывчатые, неполные, устаревшие, неправильные и даже небезопасные. Студентам-медикам не следует использовать ChatGPT для изучения трансфузионной медицины [26].

■ ДОНОРСТВО

По последним оценкам ВОЗ, ежегодно в мире собирается около 118,5 млн донорской крови, причем 40% из них составляют страны с высоким уровнем дохода, на долю которых приходится 16% населения мира. В расчете на 1000 человек частота донаций крови составляет 31,5 в странах с высоким уровнем дохода, 16,4 в странах с доходом выше среднего, 6,6 в странах с доходом ниже среднего и 5,0 в странах с низким уровнем дохода [27].

В Австралии отменили верхний возрастной предел для вернувшихся доноров (ранее имевших право на участие до 81 года) и увеличили верхний возрастной предел для новых доноров с 70 до 75 лет [28].

В Дании концентрация гемоглобина у доноров выше утром и зимой, а ниже – после полудня и летом [29].

В континентальной Франции средняя концентрация донорских тромбоцитов в период с мая по сентябрь (теплый период в северном полушарии) была ниже, чем в другие месяцы в каждом регионе. На острове Реюньон, французском департаменте, расположенном в Южном полушарии, среднее количество донорских тромбоцитов было больше в период с мая по сентябрь (холодный период), чем в другие месяцы [30].

Согласно европейским стандартам, минимально необходимый уровень гемоглобина (Hb) для афереза тромбоцитов составляет 125 г/л для женщин и 135 г/л для мужчин, но индивидуальные донации могут проводиться с уровнем Hb ниже этих уровней (EDQM, 21-е издание). Швейцарские правила устанавливают нижний допустимый предел содержания Hb для афереза тромбоцитов на уровне ≥ 110 г/л и ≥ 120 г/л для женщин и мужчин соответственно. При 26-летнем наблюдении установлено, что женщины – доноры крови с дефицитом железа с низким уровнем Hb или без него, которые не имеют права на донорство цельной крови, могут быть оставлены для проведения афереза тромбоцитов в соответствии со швейцарскими правилами. Регулярное донорство тромбоцитов у здоровых в остальном женщин с низким уровнем Hb и ферритина не связано с риском развития анемии или дальнейшего уменьшения запасов железа и способствует обеспечению достаточного запаса тромбоцитов в условиях растущего спроса на этот компонент крови и сокращения популяции доноров крови [31].

В Испании с населением 48 млн человек ежегодно проводится более 1,7 млн донаций, 1,9 млн переливаний и 413 тыс. л плазмы отправляется на фракционирование [32].

В Испании, как и в большинстве европейских стран, наблюдается дефицит плазмы и явная зависимость от препаратов крови из других стран, где их получают за определенную плату. В 2023 г. фракционировано 404 842 л плазмы на получение альбумина и ВВИГ. При выходе 26,5 г/л альбумина и 4,3 г/л ВВИГ всего было получено 10 730 752 г альбумина и 1 734 249 г ВВИГ, что соответствует удовлетворению потребности на 59 и 36% соответственно. Если бы целью было достижение 50% достаточности ВВИГ, в Испании пришлось бы получить в общей сложности на 172 420 л плазмы больше, чем сейчас используется для фракционирования. Это означает проведение на 287 366 плазмаферезов больше, чем сейчас [33].

В Дании с населением около 6 млн человек после решения о начале программы плазмафереза в 2013 г. первые поставки аферезной плазмы для фракционирования состоялись в 2015 г. (21 т) и с тех пор увеличились до 86 т в 2023 г. За тот же период объем извлеченной из цельной крови плазмы снизился до 39 т в 2023 г. по сравнению с 85 т в 2004 г. Таким образом, общее количество плазмы, доставленной на фракционирование в 2023 г., составило 125 т. В 2022 г. потребление иммуноглобулина (IG) составило 1031 кг, или 174 г на 1000 жителей. Учитывая выход 5 г IG / л плазмы, необходимость плазмы для этого количества составляет 206 т, или 35 кг плазмы на 1000 жителей. Таким образом, текущий дефицит составляет 81 т плазмы. Поскольку возможность 2 запланированных центров афереза составляет 35 и 17 т соответственно, дефицит в 2028 г. будет 29 т. Ожидается, что в существующих центрах можно будет собрать больше плазмы и что еще больше будет запланировано. С другой стороны, использование IG может снова увеличиться после некоторого снижения во время пандемии COVID-19 и после нее. В 2022 г. общее количество собранной плазмы варьировало от 11 до 33 кг на 1000 жителей в 5 СПК. Это было вызвано разным темпом принятия политических решений и показывает, что существует потенциал для увеличения объемов сбора [34].

Биобанк службы крови Финляндии специализируется на вопросах, связанных с трансфузионной медициной, таких как здоровье доноров крови. Почти все (99,5%) доноры биобанка дали свое согласие на получение результатов, связанных со здоровьем. Всем постоянным донорам и женщинам моложе 51 года после донации регулярно предлагаются добавки железа, за исключением доноров с клиническим гемохроматозом. Аллель HFE C282Y в гомозиготной форме является наиболее частой причиной наследственного гемохроматоза в кавказской популяции. Целью исследования было донести информацию о генетических рисках до доноров крови и предотвратить введение добавок железа после донорства при будущих донорствах крови. 82 гомозиготы HFE C282Y были идентифицированы в популяции доноров крови (N=43 688), из них лишь 6 были осведомлены о своем генетическом риске развития гемохроматоза до начала исследования [35].

Изучили частоту гипотензивной реакции и характеристики доноров плазмы для фракционирования, которые могут быть предикторами гипотензивной реакции. Проанализированы данные о донациях 1,1 млн доноров, сделавших 12 183 183 донации в период с 1 мая по 31 августа 2018 г. Это составило примерно 72% донаций, собранных индустрией плазмы США. Доля женщин и мужчин с гипотензивной реакцией составила $16,18 \times 10^4$ и $3,56 \times 10^4$ донации соответственно. Доноры в возрасте до 24 лет и старше 65 лет, первичные доноры, низкий ОЦК и высокий пульс перед донацией – предикторы гипотензивной реакции [36].

Прием воды или изотонического напитка перед донацией, вероятно, приводит к значительному снижению вазовагальных реакций (ВВР) в донорском центре и за его пределами. Прием напитка с кофеином или добавлением соли перед донацией может привести к снижению ВВР по сравнению с приемом только воды. Необходимы будущие крупные испытания, чтобы повысить достоверность эффекта этих и других вмешательств в профилактике ВВР [37].

На Тайване показано, что частые донации цельной крови связаны со снижением риска госпитализации с сердечно-сосудистыми заболеваниями у доноров мужского пола [38].



■ ИНФЕКЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

До 2020 г. в Японии было зарегистрировано в общей сложности 45 случаев трансфузионной передачи инфекции, вызванной вирусом гепатита E (ВГЕ). В 2020 г. был внедрен ID-NAT (Procleix® UltrioPlex E), который выявляет вирус гепатита B (ВГВ), вирус гепатита C (ВГС), вирус иммунодефицита человека 1/2 (ВИЧ) и ВГЕ, и с тех пор в Японии не было зарегистрировано ни одного случая гемотрансмиссивного ВГЕ.

Всего было проведено 17 166 516 ID-NAT. Частота положительных результатов на 100 тыс. безвозмездных доноров составила 6,7; 1,9; 0,6 и 65 для ВГВ, ВГС, ВИЧ 1/2 и ВГЕ соответственно. Для ВГЕ этот показатель значительно увеличился с 50 до 80 в течение 2020–2023 гг. В Японии впервые был идентифицирован штамм ВГЕ у кроликов, который имел низкую гомологию (89%) с ранее зарегистрированными штаммами, что указывает на неизвестные источники инфекции ВГЕ. Несмотря на то что передачу с кровью ВГЕ удалось предотвратить благодаря внедрению скрининга крови с высокой чувствительностью ID-NAT, высокая частота новых ВГЕ-инфекций среди населения в целом вызывает серьезную озабоченность общественного здравоохранения. Необходимо принять фундаментальные меры по снижению уровня инфицирования ВГЕ по всей стране [39].

Во Франции с марта по декабрь 2023 г. 1634 из 1 800 945 протестированных донаций были положительными на ВГЕ-РНК, что соответствует общей частоте 0,91 на 1000 донаций. Показатели заболеваемости варьировали от 0,53 на северо-западе до 1,94 на 1000 донаций на юго-западе страны. Среди 1630 положительных донаций 32,7% были серопозитивными (5,5% IgM+/IgG–, 5,5% IgM–/IgG+, 21,7% IgM+/IgG+).

Из 1634 доноров, положительных по ВГЕ-РНК, 1490 (91,2%) были повторными донорами крови и 554 (37,2%) из них сдавали кровь в предыдущие 4 месяца. На сегодняшний день ретроспективный результат 25 тестов до индексной донации был положительным: 14 не проходили скрининг с помощью NAT (11 – плазмы для фракционирования, и 3 сдали кровь перед внедрением NAT) и 11 были отрицательными при минипул-NAT. У 14 доноров, у которых заготовили лабильные компоненты крови, вирусная нагрузка составляла от <10 до 138 МЕ/мл, а средняя задержка между предыдущей и индексной донациями составила 63 дня (29–98). Предварительные результаты этих 14 положительных компонентов крови были доступны для 6 пациентов, и ни один из них не был инфицирован. Продуктом с самым высоким уровнем вирусной нагрузки (138 МЕ/мл) был аферезный концентрат тромбоцитов, заготовленный за 29 дней до индексной донации. Этот концентрат тромбоцитов был разделен на 4 компонента, каждый из которых содержал предположительно количество вируса от 2277 до 7071 МЕ. Эти компоненты были перелиты 3 пациентам. Один реципиент умер от своей патологии, у 2 других был отрицательный уровень ВГЕ [40].

В Пакистане описан первый случай гемотрансмиссивного ВГЕ с эритроцитами бессимптомного донора, побывавшего недавно в Великобритании [41].

На СПК Барселоны с марта 2022 по декабрь 2023 г. с помощью ID-NAT, «Пантер» («Грифолс»), было проверено в общей сложности 500 066 донаций крови. Всего 483 донации были изначально реактивными (205 на сигнал ВГС / ВИЧ 1/2 / ВГВ и 278 на сигнал ВГЕ). После завершения подтверждающих алгоритмов 122 образца были признаны ложноположительными на ВГС / ВИЧ 1/2 / ВГВ, а 105 – ложноположительными на ВГЕ, что привело к одинаковому уровню специфичности 99,98%. В 12 донациях, изначально реактивных на ВГС / ВИЧ 1/2 / ВГВ, все повторные NAT

и дискриминационные тесты были отрицательными, но анти-НВс был положительным, поэтому доноров считали инфицированными скрытым гепатитом В с низкой вирусной нагрузкой (ОВИ). Подтвержденная NAT-положительность была получена для 71 образца, изначально реактивного к сигналу ВГС / ВИЧ 1/2 / ВГВ, из них 10 доноров были ВГС, 16 – ВИЧ 1, 15 – ОВИ и 30 – ВГВ. Все образцы имели согласованную серологическую положительную реакцию, за исключением 1 фазы окна ВГВ. Подтвержденная положительная реакция ВГЕ была получена для 173 образцов, первоначально реагирующих на сигнал ВГЕ, в результате чего частота ВГЕ ID-NAT составила 1 из 2891 проверенной донации (ДИ 95%: от 1 из 2491 до 1 из 3375). Как и ожидалось, выход ВГЕ ID-NAT был значительно выше, чем предыдущий опыт с донациями ВГЕ NAT в минипуле из 16 образцов (1 из 4341; ДИ 95%: от 1 из 3703 до 1 из 5004). За период проведения данного исследования не было зарегистрировано ни одного сообщения об инфекциях, передающихся при переливании крови, в систему гемонадзора. Одновременное выявление ВГС, ВИЧ 1, ВИЧ 2, ВГВ и ВГЕ улучшило логику скрининговой лаборатории за счет: 1) исключения этапа пулирования; 2) оборудования, предназначенного для тестирования на ВГВ, которое можно было использовать для выявления ВГС, ВИЧ 1, ВИЧ 2, ВГВ и ВГЕ NAT, тем самым увеличивая пропускную способность; 3) сокращения отходов; 4) оптимизации управления запасами; 5) упрощения работы лабораторного персонала. Таким образом, одновременное выявление ВИЧ 1/2, ВГС, ВГВ и ВГЕ является последовательным решением для повышения безопасности крови с минимальными техническими сложностями [42].

В Колумбии у 76,1% доноров с анти-НВс, но без ВГВ NAT и HBsAg уровни анти-НВс превышали порог, позволяющий считать их кровь безопасной для переливания (200 МЕ/л). В этой группе доноров не было выявлено ни одного случая скрытой инфекции гепатита В (ОВИ), несмотря на среднюю распространенность ВГВ в Колумбии [43].

В Швейцарии каждые 3–4 года регистрируют вспышку парвовируса В19. Доноров плазмы для фракционирования обследуют в пулах из ≤ 96 образцов в дуплексном формате с ВГА с помощью либо Cobas DPx (Roche Diagnostics), либо Procleix Parvo / HAV (Grifols). Положительные пулы (титр ДНК парвовируса В19 $\geq 10^2$ МЕ/мл или $\geq 10^3$ МЕ/мл в зависимости от конкретных критериев выделения, выбранных региональными службами переливания крови) деконструируют, после чего проводят тестирование 1 образца и подтверждение. В индивидуальном тесте титр $\geq 10^4$ МЕ/мл считается положительным. В 2023 г. у доноров зарегистрировано 73 случая заболевания В19. Титры положительных индивидуальных образцов варьируют от $1,03 \times 10^4$ МЕ/мл до $3,29 \times 10^{13}$ МЕ/мл. Парвовирус В19 был обнаружен как у первичных, так и у повторных доноров. Были затронуты лица обоих полов, а возраст доноров варьировал от 20 до 63 лет. Большинство доноров, которых удалось опросить, заявили, что у них не было никаких симптомов. Лишь немногие сообщили о легких симптомах. Случаи за последние 6 лет: 2017 г. – 31 случай, 2018 г. – 9 случаев, 2019 г. – 12 случаев, 2020 г. – 21 случай, 2021 г. – 0 случаев и 2022 г. – 1 случай [44].

В Китае провели исследование полезности метагеномного секвенирования для выявления вириона плазмы. Из биохранилища доноров крови случайным образом было отобрано 1200 образцов плазмы, из которых создали 12 пулов по 100 образцов. Провели метагеномное секвенирование и идентифицировали 7 ДНК-вирусов, принадлежащих к 2 семействам, и 1 РНК-вирус. Среди них ДНК-вирусы включают 4 вируса семейства Anelloviridae (вирус Torque teno (TTV), вирус Torque teno midi (TTMDV),



мини-вирус Torque teno (TTMV) и TTV-подобный мини-вирус (TLMV)). Кроме того, были идентифицированы 3 ДНК-вируса из семейства Herpesviridae, включая вирус герпеса человека 6А (HHV-6А), цитомегаловирус человека (HCMV) и вирус Эпштейна – Барр (EBV). Преобладающим РНК-вирусом (96,2%, 59602/61985) был вирус GB C / пегивирус человека (GBV-C/HPgV) [45].

■ КОМПОНЕНТЫ КРОВИ

В Таиланде искусственный интеллект обучили выбирать контейнеры с плазмой нормального и ненормального цвета или мутности [46].

Европейская комиссия недавно перенесла запрет использования пластификатора DEHP в медицинских изделиях, который первоначально должен был состояться 27 мая 2025 г., на 1 июля 2030 г. [47].

«Макофарма» разработала контейнеры с новым пластификатором – DENT. Наблюдала сопоставимую выживаемость и рост бактерий между эритроцитами, хранящимися в DEHP/SAGM и DENT/PAGGSM. Более медленные темпы роста *L. monocytogenes*, наблюдаемые в начале хранения эритроцитов в контейнерах DENT/PAGGSM, могут быть вызваны различиями в пластификаторе контейнера для хранения, добавочном растворе и/или в параметрах качества между 2 типами контейнеров, что заслуживает дальнейшего изучения. В целом это исследование показывает, что риск бактериальной безопасности эритроцитов не увеличивается при внедрении контейнеров для хранения DENT/PAGGSM [48].

Производство детских концентратов тромбоцитов (ДКТ) заключается в переносе требуемого объема раствора тромбоцитов из аферезного концентрата тромбоцитов (АКТ) в контейнер для переноса. Этот перенос может быть осуществлен либо заранее – и затем ДКТ хранится в тех же условиях, что и исходный ДКТ (т. е. в полиолефиновых пакетах для хранения, подходящих для газообмена); или может быть осуществлен импровизированно, непосредственно перед переливанием. В последнем случае могут быть использованы детские контейнеры из поливинилхлорида (ПВХ). Показано, что ДКТ, приготовленные в ПВХ-контейнерах, должны быть доставлены без задержек, а тромбоциты не должны храниться в ПВХ-контейнерах более нескольких часов. Если ДКТ готовятся заранее, их следует готовить в полиолефиновых контейнерах, которые обеспечивают газообмен и пригодны для хранения ДКТ в течение 7 дней. СПК могут адаптировать производство ДКТ к организационным и экономическим соображениям, поскольку полиолефиновые пакеты в 2,5 раза дороже ПВХ [49]. Интересно, что 14 лет назад к такому же выводу пришли красноярские ученые [50].

В Германии разработали систему контейнеров, которая позволяет объединить 3 дозы СЗП, добавить соответствующий объем эритроцитов с последующим удалением осадка агглютинировавших эритроцитов в закрытой системе. После инкубации при 20–24 °С в течение 2 ч осадок эритроцитов с прикрепленными регулярными аллоантителами удаляли из пула плазмы центрифугированием (4000 g, 10 мин) и разделением. В рамках валидационного исследования показано, что этот метод не оказывает влияния на качество и безопасность универсальной плазмы [51].

В Амстердаме автоматизировали процесс выделения 8 сегментов трубки контейнера с эритроцитами для совмещения с кровью реципиента. Время процедуры с 1 контейнером сократилось с 0,8 до 0,42 мин [52].

Австралийский Красный Крест Lifeblood заключил контракт с Bosch Australia Manufacturing Solutions на разработку первой в своем роде автоматизированной машины для маркировки и проверки производственных этикеток, наносимых на компоненты крови, с использованием роботизированной автоматизации и системного управления [53].

В СПК провинции Чжэцзян, Китай, для сокращения времени ожидания виртуального подбора HLA-совместимых тромбоцитов увеличили количество доноров в базе данных HLA, особенно активных доноров, которые сдают тромбоциты аферезом более 3 раз в год. Для экстренных пациентов генотипирование Luminex-SSO HLA среднего разрешения использовалось вместо генотипирования PCR-SBT или NGS высокого разрешения. Основным источником виртуальных подходящих тромбоцитов изменился с подбора доноров на физические тромбоциты в запасе. Область применения физических тромбоцитов для виртуального сопоставления была расширена с тестирования банка на тестирование тромбоцитов, которые заготавливаются. Вся работа управляется информационной системой, включая автоматический поиск в базе данных доноров и физических продуктов, автоматический перехват целевых доноров, автоматическую блокировку совместимых тромбоцитов, автоматическую генерацию и выдачу соответствующих электронных отчетов.

К концу 2023 г. база данных HLA этой СПК достигла 25 007 доноров, из которых 2588 доноров сдали 21 857 контейнеров аферезных тромбоцитов в 2023 г. (57,4% всех тромбоцитов). Среди них 1925 активных доноров сдали 20 940 контейнеров (55,0% всех тромбоцитов). Время генотипирования HLA и идентификации антител у экстренных пациентов было сокращено с 6 до 2 дней. С сентября 2020 по февраль 2024 г. было проведено в общей сложности 1463 виртуальных подбора. Дни ожидания пациентов сократились с $5,4 \pm 5,4$ дня (медиана 4 дня) до $1,2 \pm 2,5$ дня (медиана 0 дней) соответственно. После использования всех мер оптимизации с апреля 2023 г. было проведено в общей сложности 702 виртуальных подбора. Из них 417 подходящих тромбоцитов (59,4%) были взяты из запаса того же дня, 104 (14,8%) – из тромбоцитов, перехваченных на следующий день, и 181 (25,8%) – из тромбоцитов, заготовленных в день назначения [54].

Более чем в половине стран – членов Евросоюза готовят 100% лейкодеплецированных компонентов крови. Другие страны рассматривают возможность поэтапного отказа от компонентов, не прошедших лейкодеплецию. В соответствии с признанными передовыми практиками повышения безопасности пациентов в будущем предложат удалить компоненты, не прошедшие лейкодеплецию, из европейских нормативов [55].

Ди(2-этилгексил)фталат (DEHP) долгое время использовался в качестве основного пластификатора в наборах для забора цельной крови из поливинилхлорида. Однако данные исследований на животных, свидетельствующие о потенциальной токсичности и проблемах с репродукцией, привели к внесению нормативных изменений в Европейском союзе, запрещающих использование этого пластификатора в медицинских изделиях. Европейские производители в настоящее время сосредоточены на разработке и нормативной регистрации систем сбора крови, не содержащих DEHP. Одним из пластификаторов ПВХ, исследуемых в качестве альтернативы DEHP, является ди(2-этилгексил)терефталат (DEHT). «Макофарма» показала, что замена DEHP пластификатором DEHT в наборах для забора цельной крови из ПВХ



не оказывает статистического или существенного влияния на качество получаемой замороженной плазмы *in vitro* [56].

Использование PAGGSM позволяет компенсировать потерю стабильности эритроцитов из-за замены пластификатора. Новая ассоциация DEHT/PAGGSM способна сохранять соответствие эритроцитов по гемолизу до 49 дней [57].

■ ИНАКТИВАЦИЯ ПАТОГЕНОВ

Пулированные тромбоциты, патогенредуцированные амотосаленом-УФ, хранившиеся при 4 °С, демонстрировали сохраненный метаболизм, повышенную спонтанную активацию и апоптоз, а также сохраняли адгезионные свойства тромбоцитов *in vitro* в течение по меньшей мере 14 дней. Дальнейшие эксперименты направлены на лучшее понимание характеристик и функций различных субпопуляций тромбоцитов, что может привести к разработке новых или улучшенных продуктов тромбоцитов для увеличения запасов и доступа к гемостатической поддержке тромбоцитов у пациентов с кровотечением [58].

В 2021–2023 гг. СПК в шведском Буресе перешла с размороженной СЗП, полученной из цельной крови 1 донора, хранящейся до 14 дней, на пулированные дозы патогенредуцированной плазмы (ПР-плазмы). Для получения патогенредуцированной плазмы пул из 5 размороженных АВО-идентичных доз СЗП (средний объем 260 мл) подвергали инактивации патогенов с помощью системы «Интерсепт» и разделяли на 6 доз патогенредуцированной плазмы по 200 мл и повторно замораживали. Размороженную СЗП хранили 14 суток. Срок хранения размороженной патогенредуцированной плазмы местным нормативом сократили до 7 дней.

Период до внедрения ПР-плазмы (2018–2020, П1) сравнили с периодом после внедрения ПР-плазмы (2021–2023, П2). Переливание патогенредуцированной плазмы увеличилось с 13,6% в 2021 г. до 96,9% в 2023 г. Среднее количество доз на 1 пациента снизилось с 2,4 до 1,8. Время оттаивания уменьшилось с ~17 мин для СЗП до ~7 мин для патогенредуцированной плазмы. Несмотря на более короткий срок хранения патогенредуцированной плазмы после оттаивания, количество устаревших доз СЗП в 2023 г. снизилось на 48% по сравнению с размороженными в 2018 г. Количество доз СЗП, проданных на фракционирование, увеличилось на 9% в 2023 г. по сравнению с 2018 г., при этом количество донаций цельной крови осталось примерно таким же (табл. 1).

Таким образом, внедрение пулированной ПР-плазмы, хранимой замороженной до тех пор, пока она не понадобится, потребовало некоторого дополнительного труда (1 день в неделю работы технического специалиста), но способствовало сокращению отходов, несмотря на более короткий срок хранения, повышению эффективности производства и увеличению доходов от продажи плазмы для фракционирования. Эффективность была достигнута за счет пулирования 5 доз СЗП, полученных из цельной крови, для производства 6 доз ПР-плазмы. Сокращение времени оттаивания ПР-плазмы стандартизированным объемом 200 мл имеет практическое значение для обеспечения готовности к чрезвычайным ситуациям [59].

Инактивация патогенов в аферезных концентратах тромбоцитов по-разному влияет на качество *in vitro*, что потенциально может обусловить клинический исход. В Хабаровске обнаружили значительное уменьшение количества тромбоцитов и pH тромбоцитов, обработанных Мирасол, по сравнению с тромбоцитами, обработанными

Таблица 1
Получение и применение плазмы в шведском Буросе
Table 1
Plasma production and usage in Swedish Borås

	П1 (2018–2020) Средняя (диапазон)	П2 (2021–2023) Средняя (диапазон)	Всего (2018–2023)	Изменение 2018 vs 2023
Заготовки цельной крови	8,892 (8,680–9,041)	8,853 (8,363–9–175)	53,235	+0–7%
Получено доз СЗП	921 (770–1060)	807 (752–893)	5183	–26,8%
Получено доз ПР-плазмы	–	768 (282–1074)	2304	–
СЗП/ПР-плазмы доз перелито	657 (604–741)	628 (593–675)	3855	–16,7%
СЗП/ПР-плазмы доз просрочено	233 (201–253)	147 (109–183)	1140	–48,0%
СЗП доз продано на фракционирование	7401 (6946–7923)	7552 (6978–8042)	44,859	+9,0%

Интерсепт, после 3-го дня хранения, что привело к сокращению времени хранения до максимум 3 дней для Мирасол-тромбоцитов в 100% плазме в краевом центре крови [60].

Исследовали эффективность инактивации *Plasmodium falciparum* в эритроцитах путем обработки коротковолновым ультрафиолетовым светом (УФ) в отсутствие фотохимических добавок. Самая низкая доза УФ-излучения 1,5 Дж/см² привела к снижению паразитарной нагрузки на ≥ 3 log по сравнению с необработанным контролем. Было показано, что инактивационная способность зависит от дозы. 4,5 Дж/см² привели к снижению логарифмических единиц на ≥ 5 единиц, что было эквивалентно полной инактивации в 2 из 3 экспериментов.

Ранее было показано, что уменьшение количества патогенов без фотомодификаторов с помощью УФ-излучения эффективно в отношении различных бактерий и вирусов, но инактивация паразитов до сих пор не рассматривалась. Настоящее исследование предоставляет доказательства значительной инактивации эритроцитов, инфицированных *P. falciparum*, под действием УФ-излучения [61].

■ ИММУНОГЕМАТОЛОГИЯ

Обычно при необходимости дозы эритроцитов можно получить на СПК. Но если у пациента редкая группа крови, антитела к часто встречающемуся антигену или нескольким распространенным аллоантителам, то без предварительной подготовки клиники и СПК могут возникнуть проблемы. На практическом уровне редкая кровь – это то, что не всегда доступно в случае необходимости. В наиболее сложных случаях во всем мире может быть зарегистрировано менее 10 доноров определенной редкой группы крови. Большинство из них можно распознать с помощью базового фенотипирования вместе со скринингом нерегулярных антител. Наиболее эффективный подход к поиску доноров – это привлечение пациентов, у которых согласно обнаружению антител выявлен редкий фенотип. Аналогичным образом к возможным редким донорам приводит обнаружение антител в антенатальных образцах и при скрининге доноров крови на антитела. Братья и сестры человека с редкой



группой крови с большей вероятностью будут иметь такую же редкость. Типирование доноров может быть ориентировано на постоянных доноров, начиная с доноров группы О. Кроме того, типирование может быть ориентировано на доноров из определенной страны рождения или этнического происхождения. Доноров фенотипа Jk(a-b-) чаще можно найти среди населения Финляндии, Полинезии и Японии, чем среди других. Важно проводить фенотипирование Rh и K в больших масштабах, чтобы удовлетворить потребности пациентов с общими группами крови и антителами к группам крови; к счастью, одновременно обнаруживаются чрезвычайно редкие нулевые фенотипы. С помощью фенотипирования Rh и K, включая типирование k от доноров K+, можно обнаружить такие редкости, как k- и Rhnull. Расширенное типирование, включая Fy, Ss, Jk, позволит найти доноров Fy (a-b-), Jk (a-b-) и S-s-. Это можно сделать либо фено-, либо генотипированием. Фенотипирование можно распространить на антигены, для которых имеются антисыворотки, такие как Кра и Lua, а при поиске антиген-положительных доноров провести тестирование на антигены Krb и Lub. Процесс типирования в Финляндии показан в табл. 2. Кроме того, служба крови управляет биобанком, содержащим данные генома примерно 58 000 доноров крови [62].

Аллоиммунизация к эритроцитам из-за наличия панреактивных или неспецифических аллоантител к антигенам эритроцитов создает серологическую несовместимость и затрудняет выбор совместимых доз крови для трансфузионной терапии. У индийских пациентов специфичность антител не определяется примерно в 14–36%. В настоящее время для характеристики этих антител используются обширные серологические исследования с последующим простым генотипированием. Однако полезность этих анализов генотипирования ограничена, когда фенотипы крови являются результатом новых вариантов. В качестве альтернативы подходы, основанные на целенаправленном секвенировании следующего поколения (T-NGS), были успешно применены для разрешения сложных случаев. Восемнадцать случаев, когда специфичность антитела не удалось идентифицировать, были проанализированы с использованием анализа T-NGS для 51 гена, связанного с 41 антигеном систем

Таблица 2
Типирование доноров в Финляндии
Table 2
Donor typing in Finland

Метод	Антиген	Доноры	Тестов в месяц
Скрининг антител		Первичные, возможно, иммунизированные	7000
Автоматическое фенотипирование	Rh K(k)	Первичные	2772
Автоматическое фенотипирование	Jk Fy Ss M	Регулярные, A B O K- не R1R2	319
Ручное фенотипирование	Ula LWa/b Lsa WESa Cx Coa/b Lua/b Cw Кра/b Wra	Часть расширенно фенотипированных доноров	48
Генотипирование	RH KEL JK FY MNS DI DO CO YT LU	Часть расширенно фенотипированных доноров и доноров африканского происхождения	54

группы крови. С использованием подхода, основанного на NGS, у индийских пациентов выявлено 7 новых вариантов аллелей, которые ответственны за возникновение нулевых фенотипов. Выявленные редкие доноры будут зарегистрированы в Реестре редких доноров Индии (RDRI) для предоставления редких доз на национальном и международном уровнях [63].

Магролимаб (Hu5F9-G4) представляет собой новое моноклональное IgG4-антитело против CD47, находящееся в стадии оценки для лечения рака крови и солидных органов. CD47 – это сигнал «не ешь меня», который чрезмерно экспрессируется при некоторых видах рака, что приводит к уклонению иммунной системы от удаления раковых клеток. Магролимаб (анти-CD47) блокирует этот сигнал и обеспечивает фагоцитоз раковых клеток макрофагами. CD47 экспрессируется на эритроцитах и обеспечивает их нормальный клиренс с возрастом. Магролимаб связывается с эритроцитами и препятствует проведению определения группы крови, а также прямых и непрямых антиглобулиновых тестов [64].

Обработка растворимым рекомбинантным CD47 плазмы крови пациентов, получавших анти-CD47-терапию, ингибирует анти-CD47 и позволяет идентифицировать «подлежащие» аллоантитела к эритроцитам [65].

В Японии создали клеточную линию, которая минимально экспрессирует основные, часто встречающиеся антигены эритроцитов. Эта панельная клеточная линия была получена с использованием иммортализованной эритроидной клеточной линии и поддается генным модификациям, включая принудительную экспрессию или удаление антигена. Результаты убедительно указывают на возможность искусственного получения панельных клеток, экспрессирующих только ограниченный набор антигенов. Сейчас создают D_i^p клетку, экспрессирующую 1 антиген, в которой отсутствуют даже антигены MNS. Ожидается, что этот метод может быть применен к любому основному антигену для получения искусственных панельных клеток для простой идентификации аллоантител против каждого из основных антигенов у доноров и реципиентов крови [66].

В Великобритании при каждой донации проверяют высокий титр (BT) анти-A/-B IgM в однократном разведении 1:128 в лунках микропланшета на автоматизированной платформе (PK7300, PK7400 Beckman Coulter). Для пулированных компонентов, содержащих плазму (криопреципитат и тромбоциты), доза считается отрицательной по BT, если все составляющие дали отрицательный результат по BT. В настоящее время руководящие принципы Великобритании рекомендуют переливать компоненты плазмы, относящиеся к определенной группе, везде, где это возможно. Показано, что частота выявления анти-A и -B в высоких титрах во время обязательного тестирования в образцах доноров (<1:128) составляет около 10–15%. Лишь небольшой процент этих донаций имел очень высокий уровень анти-A/-B (например, от 17 до 25% положительных образцов по BT были положительными при 1:512, только 1% при 1:2048 и 0% при 1:4096) [67].

У RhD-отрицательных пациентов пожилого возраста, которым перелили RhD-положительные эритроциты в Испании, обнаружили уровень иммунизации в 22,98% случаев, в которых проводилось последующее наблюдение. Следует также учитывать, что в 58,6% случаев не требовалось новое переливание крови, так что анти-D-иммунизация имела клиническое значение только у 9,5% пациентов [68].



■ КЛИНИЧЕСКАЯ ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

В Северной Америке показано, что переливания тромбоцитов от доноров крови, недавно перенесших SARS-CoV-2 и с высоким титром антител к нуклеокапсиду, были связаны со снижением потребности в переливании эритроцитов, что свидетельствует о повышении эффективности переливания тромбоцитов [69].

В лондонском госпитале примерно через 30 дней после введения концентрата протромбинового комплекса (КПК, Octaplex) у 12% (8/67) пациентов наблюдались тромботические явления, в том числе в 6/8 случаев – инсульт, в 1/8 – окклюзия аорты и в 1/8 – легочная эмболия. Ни один из этих пациентов не получал антикоагулянты в начале лечения и во время тромбоза, не имел каких-либо предыдущих тромбоз-эмболических событий, но имел протромботические факторы, включая рак, осложненную госпитализацию, антифосфолипидный синдром и фибрилляцию предсердий. В этом исследовании в течение 12 месяцев в 2022–2023 гг. показана высокая частота тромбозов после использования КПК, и поэтому клиницистам необходимо рассмотреть подход с учетом риска и выгоды у пациентов с риском тромбоза. Также обнаружили, что уровень смертности после массивного кровотечения был выше у пациентов, получавших варфарин, по сравнению с пациентами, принимавшими прямые оральные антикоагулянты (ПОАК) [70].

Доноры, проходящие заместительную терапию тестостероном (ЗТТ), могут нуждаться в частой сдаче цельной крови из-за эритроцитоза. Однако рекомендации FDA запрещают использование продуктов на основе плазмы после переливания компонентов с возможным повышением концентрации тестостерона. Количество доноров с ЗТТ с супрафизиологическими уровнями тестостерона, которые могут представлять риск для пациентов, в большой когорте не изучалось. Кроме того, в настоящее время не существует стратегий по удалению избытка тестостерона из переливаемой плазмы.

Цели американского исследования были двоякими: сравнить концентрации тестостерона в супернатанте эритроцитной взвеси и концентрации тестостерона в плазме доноров с ЗТТ, использовать технологию инактивации патогенов Интерсепт, чтобы оценить, могут ли уровни тестостерона разрушаться под воздействием УФА-излучения или адсорбироваться с помощью устройства для адсорбции соединений (CAD).

В штате Юта доноры с ЗТТ составляли 14% от популяции доноров мужского пола старше 18 лет (диапазон 20–77 лет). Супрафизиологический уровень тестостерона наблюдался у 33 доноров ЗТТ (42%) по сравнению с 2 донорами из контрольной группы (8%). Свободный и общий тестостерон был значительно выше во всех компонентах крови доноров с ЗТТ по сравнению с контролем. Уровни тестостерона в супернатанте эритроцитов и плазме были одинаковыми. 10 доз ПР-плазмы показали, что тестостерон не разрушался под действием УФА-излучения ($p > 0,9999$), но инкубация с CAD снижала содержание свободного и общего тестостерона на 88,4% (и на 84% соответственно ($p = 0,0065$)).

Таким образом, доноры, получавшие ЗТТ, имели значительно более высокие уровни тестостерона, чем контрольная группа, и после получения гемокомпонентов тестостерон распределялся между эритроцитами и плазмой одинаково. Риск переливания супрафизиологических уровней тестостерона может быть устранен с помощью инактивации патогенов Интерсепт. CAD резко снизил концентрацию

свободного и общего тестостерона до нижнего референтного диапазона или ниже. Дальнейшие исследования по подтверждению удаления тестостерона из плазмы могут поддержать переливание патогенредуцированной плазмы от доноров с ЗТТ [71].

Для оценки безопасности предоперационной донации аутологичной крови (ПАД) и ее переливания в Японии собрали данные о нежелательных явлениях (НЯ) на всех этапах от донации до переливания, а также оценили пользу и безопасность ПАД у 2378 акушерских пациенток.

1664 пациентки получали только аутологичную кровь (аутологичная группа), 146 пациенток – как аутологичную, так и аллогенную кровь (аллогенная группа), а 568 пациенток не получали переливаний (группа без переливания); 91,9% пациенток избежали аллогенной трансфузии. Вазовагальная реакция (ВВР) возникла у 63 из 2378 пациенток (2,6%). НЯ, кроме ВВР, при донации развились у 114 пациенток (4,8%). Трансфузионные реакции (ТР) возникли у 29 пациенток (1,2%). Частота ТР существенно не отличалась между аутологичной (0,29 / 100 доз) и аллогенной группой (0,39 / 100 доз). В аутологичной группе часто наблюдались гипертензия и фебрильные реакции, тогда как в аллогенной группе – аллергические реакции. Таким образом, у 201 из 2378 пациенток (8,5%) наблюдались некоторые НЯ во время ПАД, хотя большинство НЯ были легкими. Даже в группе без переливания крови у 8,1% наблюдались некоторые НЯ. Учитывая, что большинство НЯ возникали в результате донации и были специфичны для акушерских пациенток, ПАД для акушерских пациенток не очень полезно. Более того, одинаковый уровень ТР между аутологичной и аллогенной группами не мог указывать на приоритет аутологичной крови [72].

В Португалии пришли к выводу, что при наличии достаточного времени пероральная заместительная терапия железом дает результаты, эквивалентные внутривенной заместительной терапии железом. Прямые затраты на внутривенный препарат железа составили 267 евро, а на пероральный препарат железа – от 9 до 18 евро. Однако общая разница в стоимости недооценена, поскольку внутривенное введение железа также сопровождается множеством косвенных затрат (дни, пропущенные на работе или учебе, поездка в больницу, госпитализация в дневной стационар). Таким образом, пероральная замена железа представляет собой гораздо более дешевый вариант МКП с эквивалентной эффективностью [73].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты конгрессов ISBT, новые достижения и опыт трансфузиологов подробнее можно обсудить на конференции Российской ассоциации трансфузиологов 12 декабря 2024 г. в Москве (Пироговский центр).

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Zhiburt E.B., Baranova O.V., Vecherko A.V., Kuzmin N.S. New in transfusiology (based on materials of the VII European Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2001;5:102–114. (in Russian)
2. Zhiburt E.B., Kayumova L.I., Vecherko A.V. New in transfusiology (based on materials of the XXVII Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2002;3(4):75–111. (in Russian)
3. Zhiburt E.B., Vecherko A.V., Reizman P.V., Kuzmin N.S. New in transfusiology (based on materials of the VIII European Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2003;4(4):57–84. (in Russian)
4. Zhiburt E.B., Baranova O.V., Reizman P.V., et al. New in transfusiology (at the XXVIII Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2005;6(1):57–99. (in Russian)



5. Zhiburt E.B. New in transfusiology (at the 15th Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2005;6(3):102–136. (in Russian)
6. Zhiburt E.B. New in transfusiology (at the XVII Regional European Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2008;9(1):25–94. (in Russian)
7. Zhiburt E.B., Shestakov E.A., Kodenev A.T., et al. New in transfusiology (at the XIX Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2009;10(3–4):64–91. (in Russian)
8. Zhiburt E.B., Klyueva E.A., Karavaev A.V., et al. New in transfusiology (at the XXX World Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2010;11(4):72–96. (in Russian)
9. Zhiburt E.B., Karavaev A.V., Madzaev S.R., et al. New in transfusiology (at the XXI Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2012;13(1):74–80. (in Russian)
10. Zhiburt E.B., Gubanova M.N., Skorikova S.V., et al. New in transfusiology (at the congresses of the International Society of Blood Transfusion in Cancun and Kuala Lumpur). *Transfusiology*. 2014;15(3):44–60. (in Russian)
11. Zhiburt E.B., Madzaev S.R., Sultanbaev U.S., et al. New in transfusiology (at the congress of the International Society of Blood Transfusion in Seoul). *Effective pharmacotherapy*. 2015;12:30–37. (in Russian)
12. Zhiburt E.B., Burkitbaev Zh.K., Zarubin M.V., et al. New in transfusiology (at the Congress of the International Society of Blood Transfusion in London). *Journal of Blood Services (Kazakhstan)*. 2016;1(6):6–19. (in Russian)
13. Zhiburt E.B., Gubanova M.N., Burkitbaev Zh.K., et al. New in transfusiology (at the congress of the International Society of Blood Transfusion in Dubai). *Transfusiology*. 2017;18(1):65–74. (in Russian)
14. Zhiburt E.B., Gubanova M.N., Gaivoronskaya V.V., et al. New in transfusiology (at the congress of the International Society of Blood Transfusion in Copenhagen). *Transfusiology*. 2017;18(3):62–78. (in Russian)
15. Zhiburt E.B., Gubanova M.N., Chemodanov I.G., et al. New in transfusiology (at the congress of the International Society of Blood Transfusion in Toronto). *Transfusiology*. 2018;19(3):75–86. (in Russian)
16. Zhiburt E.B., Gubanova M.N., Averyanov E.G., et al. New in transfusiology (at the congress of the International Society of Blood Transfusion in Basel). *Transfusiology*. 2019;20(3):223–236. (in Russian)
17. Zhiburt E.B., Kuznetsov S.I., Chemodanov I.G., et al. New in transfusiology (at the virtual congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2021;22(1):47–64. (in Russian)
18. Zhiburt E.B., Averyanov E.G., Kuznetsov S.I., et al. New in transfusiology (at the 31st regional congress of the International Society of Blood Transfusion in 2021). *Transfusiology*. 2021;22(4):374–385. (in Russian)
19. Zhiburt E.B., Averyanov E.G., Gubanova M.N., et al. New in transfusiology (at the virtual congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2023;24(1):53–68. (in Russian)
20. Zhiburt E.B., Khamitov R.G., Pokhabov D.S., et al. New in transfusiology (at the 33rd Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion). *Transfusiology*. 2023;24(3):232–250. (in Russian)
21. Zhiburt E.B., Khamitov R.G., Pokhabov D.S., et al. New in transfusiology (at the congress of the International Society of Blood Transfusion in Cape Town). *Hematology. Transfusiology. Eastern Europe*. 2023;9(4):427–434. (in Russian)
22. Abdrakhmanova S., Yun L., Zhangaieva K. Current situation of the blood service in the Republic of Kazakhstan. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):137.
23. Pons V., Ayats J., Soriano T., et al. Home Transfusion, a viable and secure approach for complex, frail patient population. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):99.
24. Sprogøe U., Lund M.E., Antonsen B., et al. Efficiency of red cell unit delivery by pneumatic tube system. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):169–170.
25. Brynolf A., Sandström A., Hjalgrim H., Edgren G. Long-term risk of lymphoma and autoimmune disease following red-cell transfusion in childbirth – a Swedish nationwide cohort study. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):107–108.
26. Leung E., McBride E., Ford J. Can medical students use AI to learn transfusion? ChatGPT and the ASH medical student transfusion learning objectives. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):90.
27. Lee C. Confronting blood supply challenges with decreasing birthrates. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):62–63.
28. Speedy J., Josling G., Hoad V. Removing upper age restrictions for returning donors and increasing the new donor upper age; donor safety findings utilizing a comprehensive donor vigilance system. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):29.
29. Wehrens S.S., Meulenbeld A., Prinsze F.J., et al. Seasonal and daily variation in haemoglobin in the Dutch blood donor population. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):204.
30. Isola H., Naegelen C., Marpaux N., et al. Seasonal variation of donors platelet count in France. Impact in platelet concentrate production. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):244–245.
31. Pehlic V., Volken T., Stehle G., et al. Retention of female blood donors with low haemoglobin or iron deficiency for plateletpheresis. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):79.
32. De Celis-Miguélez A. New european regulation on substances of human origin (SoHO). *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):7.
33. Puig Rovira L., Millan A. Plasmapheresis and plasma donation - challenges in the blood/plasma supply chain. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):7–8.
34. Georgens J., Hansen M.B., Homburg K.M., et al. Plasma self-sufficiency for plasma derived medical products (PDMP) from unpaid and uncompensated donors is feasible in countries with a high usage of immunoglobulin. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):162.
35. Forstén J., Pitkänen K., Clancy J. Returning genetic information to blood donors – hemochromatosis. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):205–206.
36. Franssen M., Becker M., Lenart J., et al. Hypotensive adverse events among U.S. source plasma donors Plasmavigilance II. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):109.
37. Van Remoortel H., Van de Sande D., De Buck E., Compennolle V. The efficacy and effectiveness of eating and drinking interventions to reduce vasovagal reactions in blood donors – a systematic review of controlled experimental studies. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):206–207.
38. Hsu L., Chen J., Wei S., Hou S. Association of blood donation with the risk of cardiovascular disease in whole blood donors. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):213–214.
39. Tanaka A., Sobata R., Kitsukawa K., et al. Epidemiological features of hepatitis E virus infection among blood donors in Japan revealed by universal NAT screening. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):72.
40. Laperche S., Tributou M., Dimeglio C., et al. HEV Infection in blood donors in France – first results from NAT testing. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):72–73.
41. Wazeer A., Waheed U., Qasim Z., et al. First confirmed case of transfusion-transmitted hepatitis E in a thalassaemia patient in Pakistan. *Vox Sang*. 2024;119 (Suppl. 1):355–356.

42. Bes M., Piron M., Muñoz M., Sauleda S. Improving NAT screening strategies in real life – simultaneous ID-NAT detection of HCV, HIV-1, HIV-2, HBV and HEV in blood donations. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):308–309.
43. Pérez-Carrillo J.A. Characterization of anti-HBs titers in blood donors with anti-HBc reactive results in an upper-middle-income country hospital blood bank. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):324.
44. Tinguely C., Glauser A., Stolz M., et al. Parvo virus B19 outbreak among blood donors in Switzerland. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):83.
45. Rong X., Shan Z., Huang J. Characterizing viral profiles in eligible plasma – insights from blood donor biorepository samples metagenomics. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):108.
46. Sripara P., Jenwitheesuk K., Punjaruk W., et al. Revolutionizing plasma quality control – a novel AI-enhanced approach for accurate plasma product assessment. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):46.
47. Klei T.R. Scientific and regulatory overview of the non-DEHP transition. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):65–66.
48. Ramirez-Arcos S., Kou Y., Kumaran D., et al. Bacterial proliferation is comparable in red blood cell concentrates stored in DEHT/PAGGSM and DEHP/SAGM containers. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):66.
49. Isola H., Galvanin A., Pissenem Rudwill F., et al. Impact of storage conditions in pediatric platelet concentrates. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):243–244.
50. Filina N.G., Ivanchin V.A., Trofina N.Yu., et al. On the quality of platelet concentrates. *Transfusiology.* 2011;12(4):32–37. (in Russian)
51. Aurich K., Greinacher A. Universal human plasma for blood group independent transfusion. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):110.
52. Mast G., Riemens B., Visser M., Verheggen P. Implementation of the automatic blood bag processing system (BBPS) at Sanquin Blood Bank. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):232.
53. Boljesic C., Marinakis D. Automated labelling and verification of blood components. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):235.
54. Xu X., Zhang B., Liu Y., et al. How to achieve a "God speed" platelet electronic matching for iPTR patients – a single-center experience. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):237–238.
55. Larsson L., Klei T.R., Baroti-Toth K., et al. Towards removal of non-leucocyte depleted blood components from European standards. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):254–255.
56. Howell A., Bhakta V., Stephenson T., et al. Impact of changing from PVC-DEHP to PVC-DEHT whole blood collection sets on plasma in vitro quality. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):258.
57. Lotens A., Najdovski T., de Valensart N., et al. Quality comparison of red blood cell concentrates between DEHT-PAGGSM bags and DEHT-SAGM bags 49 days storage study. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):294–295.
58. Brouard N., Mouriaux C., Eckly A., et al. Cold-storage of amotosalen-UVA pathogen-reduced buffy-coat platelet concentrates for up to 21 days – biochemical and functional characterization, and identification of platelet subpopulations. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):297.
59. Abedi M.R., Hermansson M., Lyxe L. Introduction of amotosalen/UVA pathogen-reduced pooled plasma in a Swedish blood center – impact on production efficiency, clinical availability and cost. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):260–261.
60. Kozhemyako O., Rozhkov E., Picard-Maureau M., et al. Comparison of pathogen-reduced platelets for 5 days of storage treated with two different commercially available pathogen-inactivation technologies. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):281.
61. Fischer S., Zilkensat S., Schulze T., et al. Dose-dependent inactivation of Plasmodium falciparum in red blood cell concentrates by treatment with short wavelength ultraviolet light. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):292–293.
62. Sareneva I., Korhonen A., Toivonen S., et al. A thousand and one – practical strategies for finding rare blood donors. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):21.
63. Kshirsagar P.D., Raval G., Kulkarni S.S., et al. Identification of novel and rare blood group variants leading to null phenotypes in red cell alloimmunized patients using targeted next generation sequencing – Indian experience. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):49.
64. Murphy M. Transfusion management in the era of magrolimab (Hu5F9-G4). *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):57.
65. Bui T., Izard C., Pedini P., et al. Evaluation of soluble recombinant CD47 on a French cohort of patients treated with anti-CD47 therapy. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):58.
66. Funato K., Kurita R., Kikuchi G., et al. Gene-modified PBDEP-4 cell line enables the production of artificial panel cells for antibody screening and identification. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):69–70.
67. Wardle A., Huijs S., Robbins M., et al. How high is high? An assessment of anti-A/B titres in the UK donor population. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):110.
68. Puente F., Pérez Aliaga A., Aranda A., et al. Immunization rate in RhD-negative patients transfused with RhD-positive red cell concentrates. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):526.
69. Roubinian N., Plimier C., Spencer B.R., et al. Blood donor SARS-CoV-2 infection is associated with increased platelet transfusion effectiveness in recipients without acute COVID-19. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):116.
70. Papadaki A., Alimam S. Octaplex usage in UCLH NHS Foundation Trust. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):275–276.
71. Greenwall B., Reeder K., Anani W. Elevated plasma testosterone concentrations with males on testosterone replacement therapy are mitigated with pathogen reduction technology. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):279.
72. Yokohama A., Fujita H., Nagai K., et al. Adverse events during preoperative autologous blood donation and its usage in obstetrical patients – a multicenter, retrospective study in Japan. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):523.
73. Marinho R.G., Oliveira M., Fonseca F., et al. Intravenous Iron versus oral Iron for patient blood management in major orthopaedic surgery – an equivalence study. *Vox Sang.* 2024;119 (Suppl. 1):554–555.



Абу-Хадир М.Р.
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

XII Всероссийская конференция «Инновации в гематологии»

Контакты: abu-khadirmr@my.msu.ru

1 ноября 2024 г. в Главном военном клиническом госпитале им. Н.Н. Бурденко состоялась XII Всероссийская конференция «Инновации в гематологии», проведенная НКО «Ассоциация врачей-гематологов». В конференции приняли участие представители ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, НМИЦ гематологии, НМХЦ им. Н.И. Пирогова, КГ «Лапино», ГКБ № 52, МЕДСИ, ФГБОУ ДПО РМАНПО. К онлайн-трансляции присоединились коллеги из Москвы, Санкт-Петербурга, Иркутска, Красноярска, Ростова-на-Дону и других регионов России. Имели место онлайн-вопросы, дискуссия.

В рамках мероприятия обсуждались актуальные вопросы диагностики и лечения в гематологии.

Во вступительном слове начальник гематологического центра ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, главный гематолог Министерства обороны РФ, доктор медицинских наук, профессор Олег Анатольевич Рукавицын сообщил, что конференция является ежегодной и проводится в день рождения выдающегося российского (советского) гематолога академика Андрея Ивановича Воробьева.

Заведующая отделением клеточной и иммунной терапии НМИЦ гематологии Минздрава России, кандидат медицинских наук **Ольга Александровна Алешина** рассказала о **современных возможностях терапии рецидивов и рефрактерных форм острых лейкозов у взрослых** с применением анти-CD19 (блинатумомаб), анти-CD22 (инотузумаб озогаминцин) антител, специфических ингибиторов белка Bcl-2 (венетоклакс), ингибиторов протеинкиназ (сорафениб), CD28- и 4-1BB-CAR-T-терапии. Было анонсировано производство клеточных генотерапевтических лекарственных препаратов на площадке НМИЦ гематологии, получившее лицензию Минпромторга. До конца 2025 года планируется завершить клинические испытания препарата CAR-T-лимфоцитов второго поколения, специфичных к CD19-антигену В-клеток, у взрослых пациентов с рецидивными и рефрактерными формами В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний. Планируется, что стоимость препарата НМИЦ гематологии будет существенно ниже зарубежного аналога («Кимрайя», Novartis).

Заместитель главного врача по онкологии НМХЦ им. Н.И. Пирогова, доктор медицинских наук, профессор **Владислав Олегович Саржевский** представил **принципы ведения пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой в клинической практике**: для кандидатов на ауто-ТГСК эффективной терапией

индукции ремиссии является применение четырехкомпонентной схемы лечения (квадриплет), доказанно более эффективной по сравнению с триплетным режимом и включающей антитела к CD38 (даратумумаб и исатуксимаб), ингибитор протеасомы, иммуномодулирующий препарат и дексаметазон.

Заместитель руководителя онкоцентра КГ «Лапино-2», заведующая отделением онкогематологии КГ «Лапино-2» ГК «Мать и дитя», доктор медицинских наук, профессор **Первин Айдыновна Зейналова** обратила внимание на **применение подкожной лекарственной формы моноклональных антител (препарата даратумумаб) у пациентов с множественной миеломой** в опыте КГ «Лапино». По данным клинических наблюдений, подкожная форма не уступает внутривенной в эффективности, при этом лучше переносится и существенно облегчает терапию.

Заведующий отделением гематологии и онкологии МЕДСИ, кандидат медицинских наук **Алексей Борисович Федоров** описал **подходы к терапии множественной миеломы в ранних линиях**: по данным исследований, применение леналидомида (25 мг) на стадии тлеющей миеломы высокого риска значительно улучшает прогноз, медиана до развития множественной миеломы в группе с леналидомидом составила 9,5 года, в то время как в контрольной группе без терапии – 2,1 года. Терапию ранней активной множественной миеломы необходимо начинать незамедлительно, при этом сохранение опций терапии для более поздних линий нецелесообразно, так как 20–24% пациентов умирают между каждой линией терапии, 57% получают только первую линию.

Врач-рентгенолог рентгенологического центра ФГБУ ГВКГ им. Н.Н. Бурденко Министерства обороны РФ, кандидат медицинских наук **Сергей Анатольевич Алексеев** представил **результаты исследования метода диффузионно-взвешенной МРТ у пациентов с лимфомами** для оценки объема и активности опухоли, эффективности терапии и статуса поддержания ремиссии. Внедрение метода целесообразно после получения ответа и до детекции прогрессирования заболевания, однако прекращение терапии возможно только при отрицательных результатах ПЭТ. Метод ДВ-МРТ обладает рядом преимуществ по сравнению с ПЭТ-КТ: он проще, безопаснее и менее дорогостоящий. Чувствительность метода до лечения более 90%, после лечения – 94–98%, при детальном рассмотрении результат полностью соответствует ПЭТ-КТ.

Заведующая отделением гематологии и химиотерапии, доцент кафедры общей терапии ФДПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, доктор медицинских наук, профессор кафедры гематологии и трансфузиологии РМАНПО **Елена Александровна Барях** рассказала об **оптимальных опциях терапии рецидивов хронического лимфолейкоза**: по данным исследований (HELIOS, RESONATE, РСУС-1102/1103) доказано, что терапия ибрутинибом (ковалентный селективный ингибитор тирозинкиназы Брутона) улучшает выживаемость без прогрессирования и общую выживаемость у пациентов с ранее нелеченным ХЛЛ, в том числе в группах с неблагоприятным прогнозом: с del(17p), мутацией TP53, комплексным кариотипом, при рецидивирующих и рефрактерных формах.

Врач-гематолог-онколог отделения онкогематологии онкологического центра КГ «Лапино» ГК «Мать и дитя» **Фируза Мазахир-кызы Аббасбейли** рассказала о возможности использования проточной цитометрии в качестве дополнительного метода диагностики **лимфомы Ходжкина**, а также для уточнения **МОБ-статуса**, имеющего существенное значение для выбора стратегии терапии.



Доцент кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии ФГБОУ ДПО РМАНПО, кандидат медицинских наук **Маргарита Александровна Смирнова** выделила **патогенетическую взаимосвязь анемического синдрома, хронической сердечной недостаточности и хронической болезни почек как единого кардио-ренально-анемического синдрома**, был освещен механизм положительной обратной связи для этих патологий. По данным исследований, ассоциация патологий почек и сердечно-сосудистой системы с сахарным диабетом может увеличивать степень тяжести анемий за счет диабетической нефропатии (снижения синтеза эритропоэтина), синдрома мальабсорбции (снижения кровоснабжения ЖКТ на фоне гипергликемии), уремической интоксикации, кетоацидоза, нарушений обмена сорбитола и снижения активности Na/K-АТФазы в эритроцитах (может приводить к гемолизу), появления антител к трансаминазам и париетальным клеткам желудка (снижение синтеза внутреннего фактора Касла), побочного действия лекарственных средств (метформина, тиазолидиндионов, препаратов сульфонилмочевины, иАПФ, БРА, бета-АБ).

Начальник гематологического центра ФГБУ ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, главный гематолог Министерства обороны РФ, доктор медицинских наук, профессор **Олег Анатольевич Рукавицын** рассказал о **современных подходах к лечению миелодиспластического синдрома**: помимо гемотрансфузионной терапии, необходимой для восполнения дефицита элементов крови, основу терапии составляют стимуляторы гемопоэза – в первую очередь эритропоэтин (эральфон), применяющийся при анемии с ЭПО <500 МЕ/л (не применяется при сужении красного ростка <10%). Основу патогенетической терапии составляют гипометилирующие агенты, ингибиторы ангиогенеза.

По завершении основной программы прозвучали заключительные ремарки председателей и присутствующих в зале заведующих гематологическими отделениями Москвы.

Конференция показала высокую актуальность научных исследований в области гематологии. Участники отметили значимость встречи для развития науки, укрепления и расширения связей между специалистами-гематологами в разных областях России, необходимость регулярного проведения конференций для обмена мнениями и опытом.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ, ПЛАНИРУЮЩИХ ПУБЛИКАЦИЮ В ЖУРНАЛАХ ИЗДАТЕЛЬСТВА «ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ ИЗДАНИЯ»

С подробной версией и примерами оформления статьи можно ознакомиться на сайте www.recipe.by.

В журнале публикуются оригинальные статьи, описания клинических наблюдений, лекции и обзоры литературы.

Журнал рассматривает материалы от аспирантов, соискателей, докторантов, специалистов и экспертов.

Представление статьи в журнал подразумевает, что:

- статья не была опубликована ранее в другом журнале;
- статья не находится на рассмотрении в другом журнале;
- все соавторы согласны с публикацией текущей версии статьи.

Перед отправкой статьи на рассмотрение убедитесь, что в файле (файлах) содержится вся необходимая информация на русском и английском языках, указаны источники информации, размещенной в рисунках и таблицах, все цитаты оформлены корректно.

Параметры форматирования: Times New Roman, кегль – 12, междустрочный интервал – 1,5. Объем оригинального исследования, описания клинического случая – 30 000 знаков с пробелами (15–17 страниц), обзора, лекции – 50 000 знаков с пробелами (20–25 страниц). Количество рисунков и таблиц – не более 5 для каждой позиции. Количество литературных источников: для оригинального исследования, описания клинического случая – не более 30, обзора, лекции – не более 50. Допускается 10–15%-е отклонение от заданных объемов.

На титульном листе статьи размещаются (на русском и английском языках):

I. Имя автора (авторов)

На русском языке при указании авторов статьи фамилию следует указывать до инициалов имени и отчества (Иванов П.С.).

На английском языке при указании авторов статьи используется формат «Имя, инициал отчества, фамилия» (Ivan I. Ivanov). Фамилию на английском языке необходимо указывать в соответствии тем, как она была указана в ранее опубликованных статьях, или использовать стандарт BSI.

II. Информация об авторе (авторах)

В этом разделе перечисляются звание, должность, иные регалии. Здесь также указываются e-mail и телефон ответственного автора.

III. Аффiliation автора (авторов)

Аффiliation включает в себя официальное название организации, включая город и страну. Авторам необходимо указывать все места работы, имеющие отношение к проведению исследования.

Если в подготовке статьи принимали участие авторы из разных учреждений, необходимо указать принадлежность каждого автора к конкретному учреждению с помощью надстрочного индекса.

Необходимо официальное англоязычное название учреждения для блока информации на английском языке.

IV. Название статьи

Название статьи на русском языке должно соответствовать содержанию статьи. Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

V. Аннотация

Рекомендуемый объем структурированной аннотации для оригинальных исследований: 1000–2000 знаков с пробелами. Аннотация содержит следующие

разделы: Цель, Методы, Результаты, Заключение. Для обзорных статей и описаний клинических случаев требований к структуре резюме нет, его объем должен составлять не менее 1000 знаков с пробелами.

В аннотацию не следует включать впервые введенные термины, аббревиатуры (за исключением общеизвестных), ссылки на литературу.

VI. Ключевые слова

5–7 слов по теме статьи. Желательно, чтобы ключевые слова дополняли аннотацию и название статьи.

VII. Благодарности

В этом разделе указываются все источники финансирования исследования, а также благодарности людям, которые участвовали в работе над статьей, но не являются ее авторами.

VIII. Конфликт интересов

Автор обязан уведомить редактора о реальном или потенциальном конфликте интересов, включив информацию о конфликте интересов в соответствующий раздел статьи. Если конфликта интересов нет, автор должен также сообщить об этом. Пример формулировки: «Конфликт интересов: не заявлен».

Текст статьи

В журнале принят формат IMRAD (Introduction, Methods, Results, Discussion; Введение, Методы, Результаты, Обсуждение).

Рисунки

Рисунки должны быть хорошего качества, пригодные для печати. Все рисунки должны иметь подрисовочные подписи. Подрисовочная подпись должна быть переведена на английский язык.

Таблицы

Таблицы должны быть хорошего качества, пригодные для печати. Обязательны таблицы, пригодные для редактирования, а не отсканированные или в виде рисунков. Все таблицы должны иметь заголовки. Название таблицы должно быть переведено на английский язык.

Список литературы

В журнале используется Ванкуверский формат цитирования, который подразумевает отсылку на источник в квадратных скобках и последующее указание источников в списке литературы в порядке упоминания: [6].

При описании источника следует указывать его DOI, если его можно найти (для зарубежных источников удается это сделать в 95% случаев).

В ссылках на статьи из журналов должны быть обязательно указаны год выхода публикации, том и номер журнала, номера страниц.

В описании каждого источника должны быть представлены не более 3 авторов.

Ссылки должны быть верифицированы, выходные данные проверены на официальном сайте.

Списки литературы приводятся только на английском языке, без транслитерации. После описания русскоязычного источника в конце ссылки ставится указание на язык работы: (in Russian).

Для транслитерации имен и фамилий авторов в русскоязычных источниках, названий журналов следует использовать стандарт BSI.

Редакция журнала ведет переписку с ответственным (контактным) автором.

Редакция вправе отклонить статью без указания причины.