



ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ АРХИВ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 1923 году

ТОМ 92

№ 7. 2020

CONSILIUM
MEDICUM



журнал
«Терапевтический архив»

*На XIII Международной
профессиональной выставке «ПРЕССА»
журнал удостоен Знака отличия
«Золотой фонд прессы»*

«Терапевтический архив» —
научно-практический
рецензируемый медицинский журнал.
Выходит 12 раз в год.
Основан в 1923 году.

“Terapevtičeskij arhiv” (Therapeutic Archive)
is a monthly peer-reviewed medical Journal.
Founded in 1923.

Журнал представлен в следующих международных ба-
зах данных и информационно-справочных изданиях:
РИНЦ (Российский индекс научного цитирования),
Web of Science (Current Contents Connect, BIOSIS
Previews, Russian Science Citation Index – RSCI), Web
of Science Core Collection (Science Citation Index Ex-
panded), PubMed/Medline, Index Medicus, Scopus/EM-
BASE, Google Scholar, Ulrich's Periodicals Directory.

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК)
Министерства образования и науки РФ журнал
«Терапевтический архив» включен в Перечень веду-
щих рецензируемых научных журналов и изданий, вы-
пускаемых в Российской Федерации, в которых реко-
мендована публикация основных результатов диссер-
тационных исследований на соискание ученых степе-
ней доктора и кандидата наук.

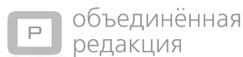
Учредитель: ООО «Терапевт 92»

Издатель: ООО «Консилиум Медикум»
Адрес издателя: 127055, Москва, а/я 106

CONSILIUM
MEDICUM

Отдел рекламы и маркетинга:
+7 (495) 098-03-59 (доб. 317)
u.zholudeva@conmed.ru

Адрес редакции: 127055, г. Москва,
ул. Новослободская, д. 31, строение 4



объединённая
редакция

По вопросам публикаций:
therarchive@hmp.ru
+7 (495) 098-03-59 (доб. 322)

Редакция не несет ответственности за содержание реклам-
ных материалов. Точка зрения авторов может не совпадать
с мнением редакции. К публикации принимаются только
статьи, подготовленные в соответствии с правилами для ав-
торов. Направляя статью в редакцию, авторы принимают
условия договора публичной оферты. С правилами для ав-
торов и договором публичной оферты можно ознакомиться
на сайте: ter-arkhiv.ru. Полное или частичное воспроизведе-
ние материалов, опубликованных в журнале, допускается
только с письменного разрешения издателя.

Индекс в каталоге «Пресса России»
43069 – для индивидуальных подписчиков
Подписано в печать 24.07.2020
Формат 60×90 1/8. Общий тираж 5000 экз.
Свободная цена.
Типография: ООО «Тверской Печатный Двор»
170100, Тверь, ул. Московская, 82/13а, к. 14

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ АРХИВ

Том 92

7.2020

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



Президиумом РАМН «Терапевтический архив»
награжден медалью С.П. Боткина

Вопросы гематологии

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор И.Е. ЧАЗОВА, акад. РАН, д.м.н., проф.
С.А. БОЙЦОВ, акад. РАН, д.м.н., проф.
И.В. ЖИРОВ, д.м.н., проф. (ответственный секретарь)
И.В. МАЕВ, акад. РАН, д.м.н., проф.
В.В. МАЛЕЕВ, акад. РАН, д.м.н., проф.
С.В. МОИСЕЕВ, д.м.н., проф.
Е.Л. НАСОНОВ, акад. РАН, д.м.н., проф.
А.И. ПАРФЕНОВ, д.м.н., проф. (заместитель главного редактора)
В.И. ПОКРОВСКИЙ, акад. РАН, д.м.н., проф.
В.Г. САВЧЕНКО, акад. РАН, д.м.н., проф.
В.В. ФОМИН, член-корр. РАН, д.м.н., проф.
Е.И. ЧАЗОВ, акад. РАН, д.м.н., проф.
А.Г. ЧУЧАЛИН, акад. РАН, д.м.н., проф.
М.В. ШЕСТАКОВА, акад. РАН, д.м.н., проф.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

А.С. АМЕТОВ (Москва), Г.П. АРУТЮНОВ (Москва),
Д.С. БОРДИН (Москва), Я.М. ВАХРУШЕВ (Ижевск),
Е.В. ВОЛЧКОВА (Москва), А.И. ВОРОБЬЕВ (Москва),
В.П. ЗАЙЦЕВ (Москва), Р.С. КАРПОВ (Томск),
В.Н. КОВАЛЕНКО (Киев), Л.П. МЕНДЕЛЕЕВА (Москва),
В.А. НЕВЗОРОВА (Владивосток), Ю.П. НИКИТИН (Новосибирск),
А.И. ПАЛЬЦЕВ (Новосибирск), Е.Н. ПАРОВИЧНИКОВА (Москва),
В.И. ПОДЗОЛКОВ (Москва), А.И. СИНОПАЛЬНИКОВ (Москва),
Е.А. ТРОШИНА (Москва), А.С. ТРУХМАНОВ (Москва),
А.В. СТАРОДУБОВА (Москва), В.В. ЧЕРНИН (Тверь),
Е.И. ШМЕЛЕВ (Москва)

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

Е.А. Михайлова, З.Т. Фидарова, А.В. Абрамова, А.В. Лучкин, В.В. Троицкая, В.Н. Двирник, И.В. Гальцева, Г.А. Клясова, А.М. Ковригина, С.М. Куликов, Ю.А. Чабаяева, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко, Т.Н. Обухова

Иммunosuppressивная терапия больных апластической анемией: успехи и неудачи (одноцентровое исследование 2007–2016 гг.)

КОНСЕНСУС

А.В. Смирнов, Б.В. Афанасьев, И.В. Поддубная, В.А. Добронравов, М.С. Храброва, Е.В. Захарова, Е.А. Никитин, Л.В. Лысенко (Козловская), И.Н. Бобкова, В.В. Рамеев, М.М. Батюшин, И.С. Моисеев, Е.И. Дарская, О.В. Пирогова, Л.П. Менделеева, Л.С. Бирюкова

Моноклональная гаммапатия ренального значения: консенсус гематологов и нефрологов России по введению нозологии, диагностике и обоснованности клон-ориентированной терапии

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Л.А. Кузьмина, Н.А. Петинати, В.А. Васильева, М.В. Довыденко, М.Ю. Дроков, Ю.О. Давыдова, Н.М. Капранов, Н.В. Сац, Ю.А. Чабаяева, С.М. Куликов, Т.В. Гапонова, Н.И. Дризе, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко

Применение мультипотентных мезенхимных стромальных клеток для лечения острой реакции «трансплантат против хозяина»

К.И. Зарубина, Е.Н. Паровичникова, В.Л. Сурич, О.С. Пшеничникова, О.А. Гаврилина, Г.А. Исинова, В.В. Троицкая, А.Н. Соколов, И.В. Гальцева, Н.М. Капранов, Ю.О. Давыдова, Т.Н. Обухова, А.Б. Судариков, В.Г. Савченко

Исследование активирующих мутаций генов сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT при В-клеточных острых лимфобластных лейкозах взрослых

О.В. Голощанов, А.Б. Чухловин, Е.А. Бакин, О.В. Станевич, Р.В. Клементьева, А.А. Шербаков, А.Н. Швецов, М.А. Суворова, С.Н. Бондаренко, М.А. Кучер, А.Д. Кулагин, Л.С. Зубаровская, И.С. Моисеев

Трансплантация фекальной микробиоты при реакции «трансплантат против хозяина» у детей и взрослых: методы, клинические эффекты, безопасность

Е.С. Нестерова, Г.А. Яцык, Н.С. Луцкич, С.К. Кравченко, А.Б. Судариков, И.В. Красильникова, Э.Г. Гемдзян, А.М. Ковригина

Информативность диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии всего тела и позитронно-эмиссионной томографии с компьютерной томографией при фолликулярной лимфоме

EDITORIAL

4 Е.А. Михайлова, З.Т. Фидарова, А.В. Абрамова, А.В. Лучкин, В.В. Троицкая, В.Н. Двирник, И.В. Гальцева, Г.А. Клясова, А.М. Ковригина, С.М. Куликов, Ю.А. Чабаяева, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко, Т.Н. Обухова

Immunosuppressive therapy of aplastic anemia patients: successes and failures (single center experiment 2007–2016)

CONSENSUS

10 А.В. Смирнов, Б.В. Афанасьев, И.В. Поддубная, В.А. Добронравов, М.С. Храброва, Е.В. Захарова, Е.А. Никитин, Л.В. Лысенко (Козловская), И.Н. Бобкова, В.В. Рамеев, М.М. Батюшин, И.С. Моисеев, Е.И. Дарская, О.В. Пирогова, Л.П. Менделеева, Л.С. Бирюкова

Monoclonal gammopathy of renal significance: consensus of hematologists and nephrologists of Russia on the establishment of nosology, diagnostic approach and rationale for clone specific treatment

ORIGINAL ARTICLES

23 Л.А. Кузьмина, Н.А. Петинати, В.А. Васильева, М.В. Довыденко, М.Ю. Дроков, Ю.О. Давыдова, Н.М. Капранов, Н.В. Сац, Ю.А. Чабаяева, С.М. Куликов, Т.В. Гапонова, Н.И. Дризе, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко

Multipotent mesenchymal stromal cells application for acute graft versus host disease treatment

31 К.И. Зарубина, Е.Н. Паровичникова, В.Л. Сурич, О.С. Пшеничникова, О.А. Гаврилина, Г.А. Исинова, В.В. Троицкая, А.Н. Соколов, И.В. Гальцева, Н.М. Капранов, Ю.О. Давыдова, Т.Н. Обухова, А.Б. Судариков, В.Г. Савченко

Detection of activating mutations in RAS/RAF/MEK/ERK and JAK/STAT signaling pathways

43 О.В. Голощанов, А.Б. Чухловин, Е.А. Бакин, О.В. Станевич, Р.В. Клементьева, А.А. Шербаков, А.Н. Шветсов, М.А. Суворова, С.Н. Бондаренко, М.А. Кучер, А.Д. Кулагин, Л.С. Зубаровская, И.С. Моисеев

Fecal microbiota transplantation for graft-versus-host disease in children and adults: methods, clinical effects, safety Informativeness of whole-body diffusion-weighted magnetic resonance imaging and positron emission tomography with computed tomography in follicular lymphoma

55 Е.С. Нестерова, Г.А. Яцык, Н.С. Луцкич, С.К. Кравченко, А.Б. Судариков, И.В. Красильникова, Э.Г. Гемдзян, А.М. Ковригина

Informativeness of whole-body diffusion-weighted magnetic resonance imaging and positron emission tomography with computed tomography in follicular lymphoma

И.Г. Рехтина, Е.В. Казарина, Е.С. Столяревич, А.М. Ковригина, В.Н. Двирный, С.М. Куликов, Л.П. Менделеева

Морфологические и иммуногистохимические предикторы почечного ответа на терапию у пациентов с миеломной каст-нефропатией и острым повреждением почек с потребностью в диализе

М.В. Фирсова, Л.П. Менделеева, М.В. Соловьев, И.Г. Рехтина, О.С. Покровская, Е.С. Урнова, Н.П. Соболева, В.Н. Двирный, Г.А. Клясова, Л.А. Кузьмина, В.Г. Савченко

Трансплантация аутологичных стволовых клеток крови больным множественной миеломой, осложненной диализ-зависимой почечной недостаточностью

В.В. Птушкин, А.Д. Кулагин, Е.А. Лукина, И.Л. Давыдкин, Т.С. Константинова, В.С. Шамрай, Н.В. Минаева, Д.А. Кудлай, Е.В. Гапченко, О.А. Маркова, А.Ю. Борозинец

Результаты открытого многоцентрового клинического исследования Ib фазы по оценке безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики первого биоаналога экулизумаба у нелеченых пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией в фазе индукции терапии

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Л.П. Менделеева, И.Г. Рехтина, А.М. Ковригина, И.Э. Костина, В.А. Хышова, Н.К. Арутюнян, В.Е. Мамонов, В.Г. Савченко

Остеодеструктивный синдром как первое проявление системного AL-амилоидоза

М.А. Гурьянова, Е.Ю. Чельшева, О.А. Шухов, А.Г. Туркина

Успешный опыт длительного наблюдения больных хроническим миелоидным лейкозом с глубоким молекулярным ответом на сниженных дозах ингибиторов тирозинкиназ II поколения: описание клинических случаев и обзор литературы

А.Л. Меликян, И.Н. Суборцева, Е.А. Гилязитдинова, Т.И. Колошейнова, Е.К. Егорова, Е.И. Пустовая, А.Б. Судариков, А.О. Абдуллаев, Л.А. Горгидзе, Д.И. Чеботарев

Прогностическое значение мутации ASXL1 при первичном миелофиброзе. Обзор литературы и описание клинического случая

А.А. Петренко, Г.А. Дудина, Н.В. Кремнева, А.В. Пивник

Парвовирус B19 у пациентов с ВИЧ-инфекцией

П.А. Лебедев, Е.В. Паранина, В.А. Россиев, Е.Ю. Федорова, А.С. Николаева

POEMS-синдром: трудности диагностики

63 *I.G. Rekhtina, E.V. Kazarina, E.S. Stolyarevich, A.M. Kovrigina, V.N. Dvirnyk, S.M. Kulikov, L.P. Mendeleeva*

Morphological and immunohistochemical predictors of renal response to therapy patients with myeloma cast nephropathy and dialysis-dependent acute kidney injury

70 *M.V. Firsova, L.P. Mendeleeva, M.V. Solovov, I.G. Rekhtina, O.S. Pokrovskaya, E.S. Urnova, N.P. Soboleva, V.N. Dvirnyk, G.A. Klyasova, L.A. Kuzmina, V.G. Savchenko*

Autologous haematopoietic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma complicated by dialysis-dependent renal failure

77 *V.V. Ptushkin, A.D. Kulagin, E.A. Lukina, I.L. Davydkin, T.S. Konstantinova, V.S. Shamrai, N.V. Minaeva, D.A. Kudlay, E.V. Gapchenko, O.A. Markova, A.Yu. Borozinets*

Results of phase Ib open multicenter clinical trial of the safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of first biosimilar of ecilizumab in untreated patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria during induction of therapy

CLINICAL NOTES

85 *L.P. Mendeleeva, I.G. Rekhtina, A.M. Kovrigina, I.E. Kostina, V.A. Khyshova, N.K. Arutyunyan, W.E. Mamonov, V.G. Savchenko*

Bone disease as the first manifestation of systemic AL-amyloidosis

90 *M.A. Gurianova, E.Yu. Chelysheva, O.A. Shukhov, A.G. Turkina*

Successful use of long-term follow-up in patients with chronic myeloid leukemia with a deep molecular response at reduced doses of 2nd generation tyrosine kinase inhibitors: clinical cases and literature review

95 *A.L. Melikyan, I.N. Subortseva, E.A. Gilyazitdinova, T.I. Koloshejnova, E.K. Egorova, E.I. Pustovaya, A.B. Sudarikov, A.O. Abdullaev, L.A. Gorgidze, D.I. Chebotarev*

The prognostic value of ASXL1 mutation in primary myelofibrosis. Literature review and clinical case description

100 *A.A. Petrenko, G.A. Dudina, N.V. Kremneva, A.V. Pivnik*

Parvovirus B19 infection in HIV-infected patients

104 *P.A. Lebedev, E.V. Paranina, V.A. Rossiyeu, E.Y. Fedorova, A.S. Nikolaeva*

POEMS-syndrome: diagnostic difficulties

Иммunosupрессивная терапия больных апластической анемией: успехи и неудачи (одноцентровое исследование 2007–2016 гг.)

Е.А. Михайлова, З.Т. Фидарова, А.В. Абрамова, А.В. Лучкин, В.В. Троицкая, В.Н. Двирнык, И.В. Гальцева, Г.А. Клясова, А.М. Ковригина, С.М. Куликов, Ю.А. Чабаева, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко, Т.Н. Обухова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

Современные программы лечения больных апластической анемией (АА) включают два основных терапевтических направления: трансплантацию аллогенного костного мозга и комбинированную иммуносупрессивную терапию (ИСТ). Методом выбора для большинства взрослых больных АА остается комбинированная ИСТ. В данную работу первоначально включены 130 пациентов с АА, получавших ИСТ в ФГБУ «НМИЦ гематологии» в 2007–2016 гг., анализ эффективности ИСТ проводился у 120 больных. Медиана возраста составила 25 (17–65) лет, 70 мужчин и 50 женщин, у 66% больных диагностирована тяжелая АА и у 34% – нетяжелая. Анализ эффективности ИСТ выполнялся у 120 больных АА. В группу анализа не включены 8 больных тяжелой АА, умерших в течение первых 3 мес от начала лечения от тяжелых инфекционных осложнений (ранние смерти – 6,2%), и 2 больных АА, течение заболевания которых неизвестно. Медиана продолжительности наблюдения – 55 (6–120) мес. Клон пароксизмальной ночной гемоглобинурии выявлен у 67% больных АА, медиана его размера по гранулоцитам – 2,5 (0,01–99,5)%. Лечение проводилось по классическому протоколу комбинированной ИСТ: лошадиный антигематоцитарный глобулин (АТГ) и циклоспорин А. У 87% больных достигнут положительный ответ на комбинированную ИСТ. Для получения положительного ответа оказалось достаточным проведение одного курса терапии АТГ 74% больных, 2 курсов АТГ – 24%, и 2% потребовалось 3 курса АТГ. У большинства больных (93%) гематологический ответ получен через 3–6 мес от начала лечения. Поэтому 3–6-й месяцы после 1-го курса АТГ при отсутствии ответа на 1-ю линию терапии можно считать оптимальным сроком проведения 2-го курса АТГ. Такая тактика позволяет получить ответ еще у 58% больных, не ответивших на 1-й курс терапии АТГ. Вероятность 10-летней общей выживаемости составила 90% (95% доверительный интервал 83,6–96,2).

Ключевые слова: идиопатическая апластическая анемия, приобретенная апластическая анемия, иммуносупрессивная терапия, антигематоцитарный глобулин, клон пароксизмальной ночной гемоглобинурии.

Для цитирования: Михайлова Е.А., Фидарова З.Т., Абрамова А.В. и др. Иммуносупрессивная терапия больных апластической анемией: успехи и неудачи (одноцентровое исследование 2007–2016 гг.). Терапевтический архив. 2020; 92 (7): 4–9. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000756

Immunosuppressive therapy of aplastic anemia patients: successes and failures (single center experiment 2007–2016)

E.A. Mikhaylova, Z.T. Fidarova, A.V. Abramova, A.V. Luchkin, V.V. Troitskaya, V.N. Dvirnyk, I.V. Galtseva, G.A. Kliasova, A.M. Kovrigina, S.M. Kulikov, Yu.A. Chabaeva, E.N. Parovichnikova, V.G. Savchenko, T.N. Obukhova

National Research Center for Hematology, Moscow, Russia

Treatment programs for patients with acquired aplastic anemia include two main therapeutic options: allogeneic bone marrow transplantation and combined immunosuppressive therapy (IST). However, combined IST remains the method of choice for most adult AA patients. This study included 120 AA patients who received IST at the National Research Center for Hematology in 2007–2016. The analysis was applied to 120 patients. Median age was 25 (17–65) years, M/F: 66/54, SAA/NSAA: 66%/34%. Effectiveness of IST was carried out in 120 patients with AA. This group did not include 8 SAA patients who died during the first 3 months from the start of treatment from severe infectious complications (early deaths – 6.2%) and 2 AA patients who dropped out of surveillance. The observation time was 55 (6–120) months. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH clone) was detected in 67% of AA patients. The median PNH clone size (granulocytes) was 2.5 (0.01–99.5)%. The treatment was according to the classical protocol of combined IST: horse antithymocytic globulin and cyclosporin A. Most of patients (87%) responded to combined immunosuppressive therapy. To achieve a positive response, it was sufficient to conduct one course of ATG to 64% of patients, two courses of ATG – 24% of patients and 2% of patients responded only after the third course of ATG. A positive response after the first course was obtained in 64% of patients included in the analysis. Most of the responding patients (93%) achieve a positive response after 3–6 months from the start of treatment. Therefore, the 3rd–6th months after the first course of ATG in the absence of an answer to the first line of therapy can be considered the optimal time for the second course of ATG. This tactic allows to get an answer in another 58% of patients who did not respond to the first course of ATG. The probability of an overall 10-year survival rate was 90% (95% confidence interval 83.6–96.2).

Keywords: idiopathic aplastic anemia, acquired aplastic anemia, immunosuppressive therapy, antithymocyte globulin, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, cyclosporin A.

For citation: Mikhaylova E.A., Fidarova Z.T., Abramova A.V., et al. Immunosuppressive therapy of aplastic anemia patients: successes and failures (single center experiment 2007–2016). Therapeutic Archive. 2020; 92 (7): 4–9. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000756

АА – апластическая анемия
АТГ – антигематоцитарный глобулин
ДИ – доверительный интервал
ИСТ – иммуносупрессивная терапия
ЛАТГ – лошадиный антигематоцитарный глобулин

ОВ – общая выживаемость
ПНГ-клон – клон пароксизмальной ночной гемоглобинурии
ТАА – тяжелая апластическая анемия
ЦСА – циклоспорин А

Введение

Апластическая анемия (АА) – заболевание системы крови, характеризующееся панцитопенией, обусловленной аплазией костного мозга, связанной с нарушением иммунных механизмов регуляции кроветворения, количественным дефицитом и функциональными дефектами стволовых кроветворных клеток. В большинстве случаев приобретенной АА взрослых патогенез заболевания носит иммуноопосредованный характер [1].

Одним из ведущих механизмов поражения кроветворения при АА считается иммунная агрессия, направленная на клетки-предшественницы гемопоэза. Костномозговая недостаточность при АА развивается в результате подавления пролиферации гемопоэтических клеток-предшественниц активированными Т-лимфоцитами и естественными киллерами. Активация Т-лимфоцитов, экспансия цитотоксических Т-клонов и выброс медиаторов иммунной супрессии кроветворения (интерферон γ , фактор некроза опухоли α и другие цитокины) или цитокинов, стимулирующих пролиферацию и активацию Т-лимфоцитов (интерлейкин-2), приводят к нарушению процессов пролиферации и стимуляции апоптоза клеток-предшественниц, вследствие чего происходят значительное сокращение количества гемопоэтических клеток и развитие аплазии костного мозга [2, 3]. Определенную роль в патогенезе АА могут, по-видимому, играть и дру-

гие механизмы развития костномозговой недостаточности, связанные с нарушениями микроокружения (стромы костного мозга) и клональными перестройками в разделе стволовых кроветворных клеток в результате геномной нестабильности, истощения теломерных участков ДНК, появления соматических мутаций и хромосомных аномалий [4–6].

Современные программы лечения больных АА включают два основных терапевтических направления: трансплантацию аллогенного HLA-идентичного костного мозга и комбинированную иммуносупрессивную терапию (ИСТ). Результаты этих двух методов лечения во многом определяются возрастом больных: у молодых (моложе 20 лет) эффективность трансплантации костного мозга значительно превышает эффективность ИСТ, но у больных более старшего возраста результаты лечения сравнимы [6]. На эффективность ИСТ помимо возраста больного отрицательное влияние оказывают тяжесть заболевания, определяемая количеством гранулоцитов в периферической крови (менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$), длительность периода от диагностики заболевания до начала ИСТ более 6 мес, хроническая перегрузка железом вследствие множественных гемотрансфузий и ряд других факторов [7–13].

В то же время выявление у больного АА клона пароксизмальной ночной гемоглобинурии – ПНГ-клона (минорного или небольшого размера) в настоящее время считается фактором возможного хорошего ответа на ИСТ [14, 15]. Отсутствие ответа на ИСТ в ряде случаев является косвенным свидетельством участия в патогенезе болезни и других механизмов развития костномозговой недостаточности [16].

Классический протокол комбинированной ИСТ включает антилимфоцитарный глобулин (АТГ) и циклоспорин А (ЦсА). Вероятность длительной общей выживаемости (ОВ) больных АА 20–40 и старше 40 лет составляет 69 и 58% соответственно [17]. Использование в данном протоколе лошадиного АТГ (лАТГ) позволяет получить положительный ответ к 3-му месяцу у 62% и к 6-му месяцу у 68% больных АА [18].

Настоящая работа посвящена анализу эффективности классического протокола комбинированной ИСТ у больных АА, находившихся на лечении в ФГБУ «НМИЦ гематологии» в период 2007–2016 гг.

Материалы и методы

Комбинированная ИСТ выполнена 130 больным АА. В течение первых 3 мес после начала лечения умерли 8 (6%) больных ТАА (ранние смерти) от тяжелых инфекционных осложнений: сепсис, висцеральный аспергиллез. В связи с отсутствием данных о дальнейшем течении заболевания 2 больных не включены в проведенный анализ. Поэтому эффективность комбинированной ИСТ оценивалась у 120 человек, среди которых 70 мужчин и 50 женщин. Медиана возраста составляла 25 (17–65) лет, медиана давности болезни – 5 (1–81) мес. Диагноз АА устанавливали на основании общепринятых критериев: анемия, гранулоцитопения и тромбоцитопения по данным анализов периферической крови; по результатам морфологического (стерильный

Сведения об авторах:

Фидарова Залина Таймуразовна – к.м.н., зав. отд-нием химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с дневным стационаром. ORCID: 0000-0003-0934-6094

Абрамова Анастасия Владимировна – врач отд-ния высокодозной интенсивной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром. ORCID: 0000-0002-8113-6115

Лучкин Антон Владимирович – врач отд-ния высокодозной интенсивной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром. ORCID: 0000-0002-4400-4711

Троицкая Вера Витальевна – к.м.н., зав. отд-нием интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром. ORCID: 0000-0002-4827-8947

Двирных Валентина Николаевна – к.м.н., зав. лаб. клинической лабораторной диагностики. ORCID: 0000-0002-9877-0796

Гальцева Ирина Владимировна – к.м.н., зав. лаб. иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга. ORCID: 0000-0002-8490-6066

Клясова Галина Александровна – д.м.н., проф., зав. лаб. клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии. ORCID: 0000-0001-5973-5763

Ковригина Алла Михайловна – д.б.н., зав. патологоанатомическим отд-нием. ORCID: 0000-0002-1082-8659

Куликов Сергей Михайлович – зав. информационно-техническим отд.

Чабаева Юлия Александровна – специалист информационно-технического отд. ORCID: 0000-0001-8044-598X

Паровичникова Елена Николаевна – д.м.н., проф., рук. отд. химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и ТКМ. ORCID: 0000-0001-6177-3566

Савченко Валерий Григорьевич – акад. РАН, д.м.н., проф., ген. дир. ORCID: 0000-0001-8188-5557

Обухова Татьяна Никифоровна – зав. кариологической лаб. ORCID: 0000-0003-1613-652X

Контактная информация:

Михайлова Елена Алексеевна – д.м.н., проф., вед науч. сотр. отд-ния высокодозной интенсивной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром. Тел.: +7(495)613-26-90; e-mail: mikhaylova.e@blood.ru; ORCID: 0000-0002-2449-2682

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика больных АА до начала ИСТ

Клиническая характеристика больных АА до начала ИСТ (n=120)		
	n	%
Мужчины	70	58
Женщины	50	42
Возраст, лет	25 (17–65)	
Медиана (диапазон)		
<18	4	3,3
18–40	100	83,3
>40	16	13,3
Тяжесть АА		
ТАА	79	66
Нетяжелая АА	41	34
ПНГ-клон		
Есть	52	68
Нет	24	32
Размер ПНГ-клона среди гранулоцитов, %		
<1	22	44
1–10	13	26
11–50	9	18
>50	6	12
Стандартное цитогенетическое исследование		
Нормальный кариотип	45	66
Хромосомные аномалии:		
Трисомия 6	1	1,5
+X	1	1,5
+mar	1	1,5
Отсутствие митозов	17	25
Ретикулоциты, %	1,05 (0,1–4,7)	
Медиана (диапазон)		
Ретикулоциты (×10 ⁹ /л)	26 (1,6–133,95)	
Медиана (диапазон)		
Ферритин, нг/мл	797 (16–5000)	
Медиана (диапазон)		
Лактатдегидрогеназа, Ед/л	391(198-931)	
Медиана (диапазон)		

пунктат) и гистологического (билатеральная трепанобиопсия) исследований костного мозга. Всем больным выполнялось цитогенетическое исследование костного мозга: на момент диагностики заболевания только в одном случае обнаружена трисомия 6 и у одной больной – трисомия X. У 79 (66%) больных диагностирована тяжелая АА (ТАА) и у 41 (34%) – нетяжелая АА. Основным критерий тяжести АА – количество гранулоцитов в периферической крови

Таблица 2. Варианты ответа на ИСТ

Показатели гемограммы	Клинико-гематологическое улучшение (гематологический ответ)	Частичная ремиссия	Полная ремиссия
Гемоглобин	≥80,0 г/л	≥100,0 г/л	≥120,0 г/л
Гранулоциты	≥1,0×10 ⁹ /л	≥1,5×10 ⁹ /л	≥2×10 ⁹ /л
Тромбоциты	≥20,0×10 ⁹ /л	≥80,0×10 ⁹ /л	≥150,0×10 ⁹ /л

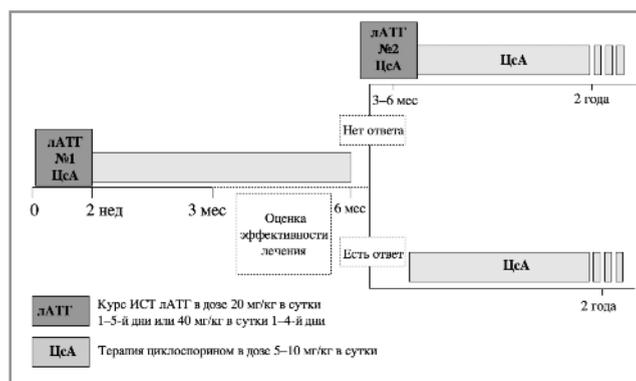


Рис. 1. Протокол комбинированной ИСТ у больных АА.

(менее 0,5×10⁹/л для ТАА). Определение ПНГ-клона высокочувствительным методом проточной цитометрии с использованием реактива FLAER до начала терапии проведено у 76 больных, выявлен у 52 (68%) из них. Медиана размера ПНГ-клона по гранулоцитам составила 1,43 (0,01–99,7)%. При этом у 70% больных размер ПНГ-клона по гранулоцитам – менее 10%. Медиана продолжительности наблюдения составила 55 (6–120) мес. Клинико-лабораторная характеристика больных представлена в **табл. 1**. Все пациенты с АА, получавшие комбинированную ИСТ в качестве терапии 1-й линии, не имели HLA-идентичного родственного донора костного мозга.

ИСТ проводилась согласно Национальным рекомендациям по лечению больных АА и по опубликованному протоколу, включающему лАТГ (Atgam, Pfizer) в дозировке 20 мг/кг в сутки в течение 5 дней и ЦсА в начальной дозе 5–10 мг/кг в сутки [19, 20]. В дальнейшем доза ЦсА подбиралась индивидуально в зависимости от клинической переносимости и концентрации ЦсА в сыворотке крови. Медиана суточной дозы составляла 300 (200–400) мг. Курс терапии ЦсА продолжался в течение 24 мес. При стабильном положительном ответе суточную дозу ЦсА медленно уменьшали на 50 мг каждые 2–4 нед под контролем показателей периферической крови. Через 3 мес от начала лечения проводили оценку эффективности терапии. При отсутствии ответа больной получал 2-й курс лАТГ в той же дозировке. Протокол комбинированной ИСТ представлен на **рис. 1**. Объем ИСТ (количество курсов АТГ+ЦсА): 1 курс проведен 77 больным, 2 курса получили 43 и 3 курса – 5 пациентов. Результаты лечения оценивались каждые 3–6 мес по критериям, представленным в **табл. 2**. Клинико-гематологическое улучшение (общий ответ, гематологический ответ) достигалось при регрессии трансфузионной зависимости.

Статистический анализ

В работе использованы классические методы статистического анализа: описательный, событийный анализ. Для оценки ОВ расчет времени проводился от даты проведения

Таблица 3. Эффективность ИСТ и характер ответа на 1 и 2-й курс АТГ (2007–2017 гг.)

Характер ответа	Положительный ответ	Ремиссии	Полные ремиссии	Отсутствие ответа
Общий ответ (n=120)	87% (104 из 120)	69% (83 из 120)	46% (55 из 120)	13% (16 из 120)
Ответ на 1-й курс АТГ (n=120)	64% (77 из 120)	58% (70 из 120)	6% (7 из 120)	36% (43 из 120)
Ответ на 2-й курс АТГ (n=43)	58% (25 из 43)	23% (10 из 43)	12% (5 из 43)	42% (18 из 43)

Таблица 4. Время развития ответа после 1-го курса АТГ

Характер ответа	3 мес	6 мес	К 12 мес и позже
Ответ (n=120/77*)	45%/70%* (n=54)	15%/23%* (n=18)	4%/7%* (n=5)
Ремиссия (n=120/70*)	8%/14% (n=10)	39%/61% (n=47)	11%/17% (n=13)

*Больные АА после одного курса АТГ.

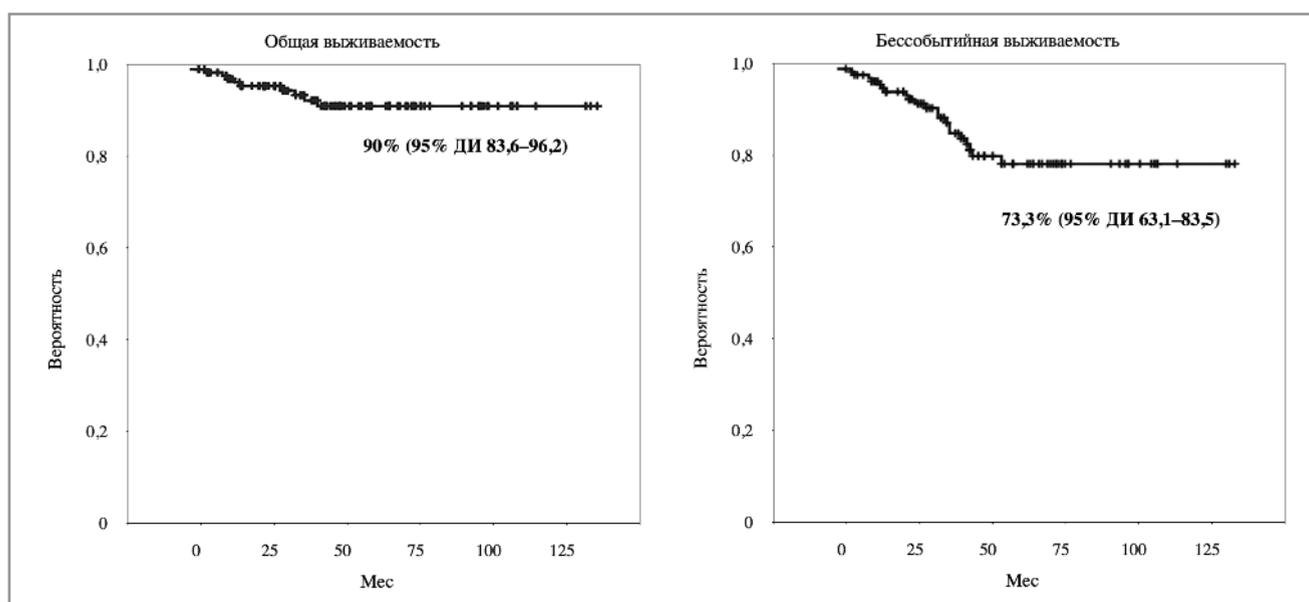


Рис. 2. Десятилетняя общая и бессобытийная выживаемость больных приобретенной АА.

курса АТГ, бессобытийной выживаемости – от даты проведения курса АТГ до даты развития рецидива, смерти или прогрессии в ПНГ. Для расчетов использовали статистический пакет SAS 9.4.

Результаты

На комбинированную ИСТ общий ответ получен у 87% (104 из 120) больных. Для достижения гематологического ответа оказалось достаточным проведение одного курса АТГ 74% (77 из 104) больным, 2 курсов АТГ – 24% (25 из 104) больных, и 2% (2 из 104) потребовалось 3 курса АТГ. На первые 2 курса ИСТ гематологический ответ достигнут у 85% (102 из 120) пациентов. Ремиссия получена у 69% (83 из 120) лиц, но полных ремиссий достигли только 46% (55 из 120) больных АА (табл. 3).

При анализе характера ответа на 1-й курс АТГ получены следующие результаты: общий гематологический ответ наблюдался у 64% (77 из 120) пациентов, ремиссия диагностирована у 58% (70 из 120) и полные ремиссии – у 6% (7 из 120) больных. Медиана развития клинико-гематологи-

ческого улучшения после 1-го курса составила 5 (1–55) мес, медиана развития частичной ремиссии – 10 (2–53) мес. Анализ времени развития ответа на 1-й курс АТГ показал, что через 3 мес и дополнительно к 6-му месяцу после начала терапии ответили 45% (54 из 120) и 15% (18 из 120) больных соответственно. Гематологический ответ через 6 мес от начала ИСТ составлял 60% (72 из 120) больных (рис. 2). При ретроспективном анализе оказалось, что из 77 больных, достигших гематологического ответа на 1-й курс АТГ, через 3 мес ответили уже 54 (70%) и к 6-му месяцу – еще 18 (23%) из 77 больных, и только 5 (7%) из 77 пациентов ответили позже (табл. 4). Таким образом, первоначальная оценка ответа на ИСТ может проводиться уже через 3 мес от начала лечения.

На 1-й курс АТГ ответ не достигнут у 36% (43 из 120) больных, поэтому им проведен 2-й курс АТГ (см. табл. 3). Гематологический ответ получен у 58% (25 из 43) больных, ремиссии – у 23% (10 из 43), при этом полные ремиссии отмечены только у 12% (5 из 43) пациентов. Медиана развития ответа после 2-го курса АТГ составила 6 (1–37) мес, медиана развития ремиссии – 15 (3–45) мес. На 2-й курс АТГ не до-

стигнут ответ на лечение 37% (18 из 43) больных. Три курса АТГ получили 5 больных, у которых не достигнут ответ на терапию после первых 2 курсов АТГ. У двоих больных достигнута частичная ремиссия, у одного больного сохраняются цитопения и зависимость от трансфузий донорских эритроцитов и тромбоцитов, 2 больных с глубокой цитопенией умерли от тяжелых инфекционных осложнений.

Поздний ответ на ИСТ (к 12 мес и позже) наблюдался у 15% (16 из 104) больных. В момент установления диагноза АА и начала ИСТ медиана возраста составила 26 (17–49) лет, ТАА диагностирована у большинства больных, многим проведено 2 курса АТГ. Но ремиссии достигнуты только у 7 из 16 лиц, при этом полные ремиссии – только у 2 из 7. У большинства пациентов получено только клинико-гематологическое улучшение. Для достижения частичной ремиссии 2 больным в протокол лечения включен элтромбопаг. Многочисленными клиническими исследованиями продемонстрировано значительное улучшение гематологических показателей под влиянием элтромбопага [21, 22].

Рецидивы отмечены у 12 (14,5%) из 83 больных, у которых достигнута ремиссия. Медиана развития рецидива составила 31 (15–56) мес. Терапия рецидивов проводилась ЦсА у 3 больных (рецидивы после его отмены), 7 человек получили повторные курсы АТГ и ЦсА и 2 пациента – АТГ, ЦсА и элтромбопаг. Ответ на лечение получен у 8 (67%) из 12 больных. При этом повторные ремиссии достигнуты у 6 из 8 больных. Медиана ответа составила 3 (1–24) мес. Повторные рецидивы после отмены ЦсА отмечены у 2 человек. Отсутствие ответа наблюдалось у 4 больных: у 3 сохраняются цитопения и зависимость от трансфузий донорских эритроцитов и тромбоцитов, 1 больной умер от тяжелых инфекционных осложнений.

Классическая ПНГ развилась у 6 (5%) из 120 больных. Медиана прогрессии в ПНГ от начала ИСТ составила 27 (4–46) мес, медиана от достижения ремиссии – 14 (1–24) мес.

За время наблюдения от момента начала ИСТ умерли 9 больных, медиана развития смерти – 16 (6–44) мес. Десятилетняя ОВ больных, получавших ИСТ, составила 90% (95% доверительный интервал – ДИ 83,6–96,2). Бессобытийная выживаемость в течение 10 лет наблюдения составила 73,3% (95% ДИ 63,1–83,5), при этом за событие принимали рецидив АА, развитие классической ПНГ, смерть больного (см. рис. 2).

Обсуждение

Современные протоколы комбинированной ИСТ, включающие АТГ и ЦсА, позволяют у большинства больных АА получить стабильный положительный ответ на лечение. В нашей работе использование классического протокола ИСТ (лАТГ + длительный курс лечения ЦсА) эффективно у 87% больных. Однако полные ремиссии достигнуты только у 46% пациентов. Но вероятность длительной (10-летней) ОВ оказалась достаточно высокой: 10-летняя ОВ больных, получавших ИСТ, составила 90% (95% ДИ 83,6–96,2). После 1-го курса АТГ гематологический ответ получен у большинства больных (64%). При этом ретроспективный анализ показал, что у 70% лиц с положительным ответом на 1-й курс АТГ уже через 3 мес можно наблюдать развитие клинико-гематологического улучшения, т.е. первичный положительный ответ на лечение. Поэтому 3–6-й месяц от начала ИСТ, с нашей точки зрения, можно считать оптимальным сроком для принятия решения о проведении 2-го курса АТГ. Проведение 2-го курса АТГ позволяет получить положительный гема-

тологический ответ еще у 58% больных, у которых 1-й курс АТГ не дал результата.

Программа лечения больных АА, используемая в ФГБУ «НМИЦ гематологии», включает длительный прием ЦсА (не менее 24 мес) с медленной отменой препарата при получении хорошего стабильного ответа (частичной или полной ремиссии) [19, 20]. Продолжительность курса применения ЦсА в программах комбинированной ИСТ до настоящего времени является предметом обсуждения в публикуемых статьях, посвященных эффективности современной терапии больных АА. В 1990-е годы использовались, как правило, короткие курсы терапии ЦсА (6 мес) в сочетании с АТГ, в дальнейшем рекомендовалось длительное лечение ЦсА – не менее года после становления ремиссии. Установлено, что частота развития рецидива не зависит от продолжительности курса лечения ЦсА, но при длительном курсе (не менее 2 лет) увеличивается продолжительность ремиссии и отдалается время развития рецидива. Известно, что к 5 годам рецидив может развиться у 1/3 больных АА, ранее достигших гематологического ответа или ремиссии на лечение. Возможно, небольшое число рецидивов среди больных нашей группы (14,5%) можно объяснить не только длительным приемом ЦсА, но и тем, что медиана наблюдения за пациентами, включенными в данную работу, от момента начала ИСТ и до времени проведения анализа результатов лечения несколько меньше 60 мес и составляет 55 мес. Дальнейшее наблюдение за больными позволит определить частоту рецидивов в более поздние сроки. В последних публикациях, посвященных эффективности комбинированной ИСТ, отмечается значительное снижение частоты развития рецидивов в тех случаях, когда лечение проводится по протоколам с длительным применением (24 мес) по сравнению с коротким курсом (6 мес) ЦсА после АТГ – 14 и 54% соответственно [12].

Вероятность длительной ОВ и безрецидивной выживаемости у больных АА, получавших комбинированную ИСТ поэтапно в определенной последовательности в рамках данной работы, оказалась достаточно высокой. Но 13% лиц не достигли ответа на проведенное лечение. Разработка эффективных методов терапии больных рефрактерной АА остается актуальной задачей дальнейших исследований, и одним из направлений этой работы является изучение эффективности включения в программу ИСТ на различных этапах лечения лекарственных препаратов, стимулирующих костномозговое кроветворения, и в частности агонистов тромбоцетиновых рецепторов (элтромбопаг) [23–25]. Клиническое использование элтромбопага может сопровождаться моно-, би-, трехлинейным гематологическим ответом у больных рефрактерной АА, а его использование в программах комбинированной терапии АА достоверно повышает частоту достижения полного ответа и ОВ больных [22]. Следует подчеркнуть, что дальнейшая оптимизация программ иммуносупрессивной терапии не исключает необходимости своевременного поиска НЛА-идентичных родственных и неродственных доноров костного мозга.

Заключение

Современная программа лечения больных АА, включающая использование на различных этапах течения болезни как комбинированной ИСТ, так и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, позволяет значительно улучшить вероятность длительной ОВ больных и качество их жизни.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Young NS, Calado RT, Scheinberg P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia. *Blood*. 2006;108:2509-19. doi: 10.1182/blood-2006-03-010777
2. Kordasti S, Costantini B, Seidl T, et al. Deep phenotyping of tregs identifies an immune signature for idiopathic aplastic anemia and predicts response to treatment. *Blood*. 2016;128:1193-205. doi: 10.1182/blood-2016-03-703702
3. Risitano AM, Maciejewski JP, Green S, et al. In-vivo dominant immune responses in aplastic anaemia: molecular tracking of putatively pathogenic T-cell clones by TCR beta-CDR3 sequencing. *Lancet (London, England)*. 2004;364:35564. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16724-X
4. Medinger M, Drexler B, Lengerke C, Passweg J. Pathogenesis of acquired aplastic anemia and the role of the bone marrow microenvironment. *Front Oncol*. 2018;8:1-10. doi: 10.3389/fonc.2018.00587
5. Young NS. Aplastic Anemia. *N Engl J Med*. 2018;379:1643-56. doi: 10.1056/NEJMra1413485
6. Luzzatto L, Risitano AM. Advances in understanding the pathogenesis of acquired aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2018;182:758-76. doi: 10.1111/bjh.15443
7. Bacigalupo A, Giammarco S, Sica S, et al. Bone marrow transplantation versus immunosuppressive therapy in patients with acquired severe aplastic anemia. *Int J Hematol*. 2016;104:168-74. doi: 10.1007/s12185-016-2037-8
8. Scheinberg P. Aplastic anemia: therapeutic updates in immunosuppression and transplantation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:292-300. doi: 10.1182/asheducation-2012.1.292
9. Townsley DM, Winkler T. Nontransplant therapy for bone marrow failure. *ASH Educ Progr B*. 2016;2016:83-9. doi: 10.1182/asheducation-2016.1.83
10. Killick SB, Bown N, Cavenagh J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2016;172:187-207. doi: 10.1111/bjh.13853
11. Bacigalupo A. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood*. 2017;129:1428-36. doi: 10.1182/blood-2016-08-693481
12. Peffault de Latour R, Tabrizi R, Marcais A, et al. Nationwide survey on the use of horse antithymocyte globulins (ATGAM) in patients with acquired aplastic anemia: A report on behalf of the French Reference Center for Aplastic Anemia. *Am J Hematol*. 2018;93:635-42. doi: 10.1002/ajh.25050
13. Alashkar F, Oelmuller M, Herich-Terhurne D, et al. Immunosuppressive therapy (IST) in adult patients with acquired aplastic anemia (AA): A single-center experience over the past 15 years. *Eur J Haematol*. 2019;103:18-25. doi: 10.1111/ejh.13235
14. Kulagin A, Lisukov I, Ivanova M, et al. Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: Results of two-centre prospective study. *Br J Haematol*. 2014;164:546-54. doi: 10.1111/bjh.12661
15. Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Young NS. Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2009;144:206-16. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07450.x
16. Scheinberg P, Cooper JN, Sloan EM, et al. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. *JAMA*. 2010;304:1358-64. doi: 10.1001/jama.2010.1376
17. Bacigalupo A. Antithymocyte globulin and transplants for aplastic anemia. *Haematologica*. 2017;102:1137-8. doi: 10.3324/haematol.2017.171538
18. Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, et al. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. *N Engl J Med*. 2011;365:430-8. doi: 10.1056/NEJMoa1103975
19. Михайлова Е.А., Фидарова З.Т., Устинова Е.Н. и др. Комбинированная иммуносупрессивная терапия у больных апластической анемией: эффективность повторных курсов. *Гематология и трансфузиология*. 2014;59:11-8 [Mikhailova EA, Fidarova ZT, Ustinova EN, et al. Combined immunosuppressive therapy of aplastic anemia: repeated courses of horse antithymocytic globulin. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2014;59:11-8 (In Russ.)].
20. Михайлова Е.А., Фидарова З.Т., Абрамова А.В. и др. Протокол программного лечения больных апластической анемией: комбинированная иммуносупрессивная терапия. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. М.: Практика, 2018; с. 213–30 [Mikhailova EA, Fidarova ZT, Troitskaya VV, et al. Protocol of program treatment aplastic anemia patients: combined immunosuppressive therapy. In *Algoritmy diagnostiki i protokoly lechenia zaboolevaniy sistemy krovi*. Moscow: Practika, 2018; p. 213-30 (In Russ.)].
21. Desmond R, Townsley DM, Dunbar C, Young NS. Eltrombopag in Aplastic Anemia. *Semin Hematol*. 2015;52(1):31-7. doi: 10.1053/j.seminhematol.2014.10.002
22. Desmond R, Townsley DM, Dumitriu B, et al. Eltrombopag restores tri-lineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug. *Blood*. 2014;123:1818-25. doi: 10.1182/blood-2013-10-534743
23. Olnes MJ, Scheinberg P, Calvo KR, et al. Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *N Engl J Med*. 2012;367:11-9. doi: 10.1056/NEJMoa1200931
24. Townsley DM, Scheinberg P, Winkler T, et al. Eltrombopag Added to Standard Immunosuppression for Aplastic Anemia. *N Engl J Med*. 2017;376:1540-50. doi: 10.1056/NEJMoa1613878
25. Scheinberg P. Activity of eltrombopag in severe aplastic anemia. *Blood Adv*. 2018;2:450-6. doi: 10.1182/bloodadvances.2018020248

Поступила 13.04.2020

Моноклональная гаммапатия ренального значения: консенсус гематологов и нефрологов России по введению нозологии, диагностике и обоснованности клон-ориентированной терапии

Рабочая группа

А.В. Смирнов¹, Б.В. Афанасьев¹, И.В. Поддубная², В.А. Добронравов¹, М.С. Храброва¹, Е.В. Захарова²⁻⁴, Е.А. Никитин^{2,4}, Л.В. Лысенко (Козловская)⁵, И.Н. Бобкова⁵, В.В. Рамеев⁵, М.М. Батюшин⁶, И.С. Моисеев¹, Е.И. Дарская¹, О.В. Пирогова¹, Л.П. Менделеева⁷, Л.С. Бирюкова^{2,7} – от имени специалистов-нефрологов, специалистов-гематологов Российской Федерации и профессиональных сообществ – участников консенсуса*

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия;

⁴ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

⁵ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

⁶ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

⁷ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

Моноклональная гаммапатия ренального значения (МГРЗ) представляет собой новую нозологическую группу в современной нефрологии и онкогематологии. Под МГРЗ понимают поражение почек, обусловленное действием нефротоксичного моноклонального иммуноглобулина, продуцируемого клоном В-клеточной линии, который не достигает критериев, необходимых для начала противоопухолевой терапии по онкогематологическим показаниям. Результатом воздействия моноклонального белка на почечную паренхиму является неуклонное прогрессирование дисфункции почек вплоть до утраты функции органа, что в соответствии с единой позицией международного консенсуса гематологов и нефрологов определено указывает на необходимость клон-ориентированного лечения МГРЗ, несмотря на отсутствие критериальных онкогематологических показаний. Основной проблемой МГРЗ в Российской Федерации является недоступность для большинства пациентов своевременной диагностики и лечения данной патологии, что обусловлено, во-первых, недостаточной осведомленностью гематологов и нефрологов страны в отношении МГРЗ, во-вторых, отсутствием в большинстве медицинских учреждений необходимых диагностических ресурсов, в-третьих, отсутствием утвержденных рекомендаций и медико-экономических стандартов лечения этой болезни. Текст настоящего консенсуса включает в себе мнение специалистов РФ в отношении нозологической классификации, диагностики и подходов к терапии МГРЗ и основан на итогах проведенного совместного совещания ведущих гематологов и нефрологов страны. Совещание состоялось 15–16 марта 2019 г. в рамках симпозиума «Плазмноклеточные дискразии и лимфопролиферативные заболевания: новые подходы к терапии», проведенного в ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова». Настоящий консенсус гематологов и нефрологов призван наметить основные практические пути решения проблемы МГРЗ в РФ, которые кратко сформулированы в виде заключительных положений.

Ключевые слова: моноклональная гаммапатия ренального значения, моноклональная гаммапатия неопределенного значения, онконейрология, поражение почек, клон-ориентированное лечение, парапротеин, нефробиопсия, плазмноклеточные дискразии, легкие цепи.

Для цитирования: Смирнов А.В., Афанасьев Б.В., Поддубная И.В. и др. Моноклональная гаммапатия ренального значения: консенсус гематологов и нефрологов России по введению нозологии, диагностике и обоснованности клон-ориентированной терапии. *Терапевтический архив.* 2020; 92 (7): 10–22. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000659

Monoclonal gammopathy of renal significance: consensus of hematologists and nephrologists of Russia on the establishment of nosology, diagnostic approach and rationale for clone specific treatment

Working group

A.V. Smirnov¹, B.V. Afanasyev¹, I.V. Poddubnaya², V.A. Dobronravov¹, M.S. Khrabrova¹, E.V. Zakharova²⁻⁴, E.A. Nikitin^{2,4}, L.V. Lysenko (Kozlovskaya)⁵, I.N. Bobkova⁵, V.V. Rameev⁵, M.M. Batyushin⁶, I.S. Moiseev¹, E.I. Darskaya¹, O.V. Pirogova¹, L.P. Mendeleeva⁷, L.S. Biryukova^{2,7} – on behalf of Consensus Participants-nephrologists and hematologists of Russian Federation and professional societies

¹Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

³Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia;

⁴Botkin City Clinical Hospital, Moscow, Russia;

⁵Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

⁶Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia;

⁷National Research Center for Hematology, Moscow, Russia

*Полный список участников консенсуса представлен в конце статьи.

Monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS) is a new nosology in modern nephrology and oncohematology. MGRS is defined as kidney injury due to nephrotoxic monoclonal immunoglobulin produced by the B-cell line clone which does not reach the hematological criteria for specific treatment initiation. Monoclonal protein's pathological effects on kidney parenchyma result in irreversible decline of kidney function till the end stage renal disease that in line with the position of International Consensus of hematologists and nephrologists determinates critical necessity for clone specific treatment in patients with MGRS despite the absence of hematological indications for treatment initiation. Main challenge of MGRS in Russian Federation is an inaccessibility of an in-time diagnostic and appropriate treatment for the great majority of patients due to the following reasons: 1) limited knowledge about the MGRS among hematologists and nephrologists; 2) lack of necessary diagnostic resources in most health-care facilities; 3) lack of approved clinical recommendations and medical economic standards for treatment of this pathological entity. Consensus document comprises the opinion of experts – leading nephrologists and hematologists of Russian Federation – on the problem of MGRS including the incoherence in nosology classification, diagnostics approach and rationale for clone specific treatment. Consensus document is based on conclusions and agreements reached during the conference of leading nephrologists and hematologists of Russia which was held in the framework of symposia “Plasma cell dyscrasias and lymphoproliferative diseases: modern approaches to therapy”, 15–16 of March 2019, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. The present Consensus is intended to define the principal practical steps to resolve the problem of MGRS in Russian Federation that are summarized as final clauses.

Keywords: monoclonal gammopathy of renal significance, monoclonal gammopathy of undetermined significance, onconephrology, kidney injury, clone specific treatment, paraprotein, kidney biopsy, plasma cell dyscrasias, light chains.

For citation: Smirnov A.V., Afanasyev B.V., Poddubnaya I.V., et al. Monoclonal gammopathy of renal significance: consensus of hematologists and nephrologists of Russia on the establishment of nosology, diagnostic approach and rationale for clone specific treatment Therapeutic Archive. 2020; 92 (7): 10–22. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000659

анти-ГБМ ГН – антитела к гломерулярной базальной мембране
аутоГГСК – аутотрансплантация гемопоэтических стволовых клеток
БОЛЦ – болезнь отложения легких цепей
БОТЦ – болезнь отложения тяжелых цепей
ГН – гломерулонефрит
ИГХ – иммуногистохимия
КриоГН – криоглобулинемический гломерулонефрит
ЛЦ – легкая цепь
МВ – макроглобулинемия Вальденстрема
МВЛ – моноклональный В-клеточный лимфоцитоз
МГ – моноклональная гаммапатия
МГНЗ – моноклональная гаммапатия неопределенного значения
МГРЗ – моноклональная гаммапатия ренального значения
МКБ – Международная классификация болезней
ММ – множественная миелома

МН – мембранозная нефропатия
ОПП – острое повреждение почек
ПГНМИД – пролиферативный гломерулонефрит с отложением моноклонального иммуноглобулина
ПК – плазматическая клетка
ПТЛЦ – проксимальная тубулопатия, ассоциированная с легкими цепями
СЗ-ГН – СЗ-гломерулонефрит
ХБП – хроническая болезнь почек
ХЛЛ – хронический лимфолейкоз
ЦН – цилиндрическая нефропатия
CRAB (C – hypercalcemia, R – renal insufficiency, A – anemia, B – bone lesions) – критерии поражения органов, обусловленные плазмоклеточной пролиферацией при множественной миеломе
Ig – иммуноглобулин
MIg – моноклональный иммуноглобулин

Введение

Концепция моноклональной гаммапатии ренального значения (МГРЗ), предложенная Международной группой по изучению поражения почек и моноклональной гаммапатии (International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research group) [1, 2], подразумевает **патологическое состояние, обусловленное пролиферацией клона В-клеток или плазматических клеток (ПК), не достигающего критериев, необходимых для начала лечения по онкогематологическим показаниям, но продуцирующего нефротоксичный моноклональный иммуноглобулин (MIg), что приводит к специфическому повреждению почек с неуклонным прогрессирующим ренальной дисфункции и ухудшением прогноза болезни.** Прогрессирование дисфункции почек, вплоть до утраты функции органа, согласно принятому международными экспертами мнению, является определяющим при решении вопроса в пользу назначения лечения, направленного на элиминацию патологического клона, несмотря на отсутствие критериальных онкогематологических показаний. В России в последние годы появился ряд публикаций, посвященных МГРЗ, авторы которых нефрологи [3–6]. Вместе с тем такие клинические случаи очевидной связи aberrантного клона (порой минорного) и поражения почек остаются недостаточно распознаваемыми и врачами, и органами управления здравоохранением. В связи с недостаточной осведомленностью гематологов и нефрологов в отношении МГРЗ, отсутствием утвержденных рекомендаций и медико-экономических стандартов лечения возникает ряд организационных проблем, включая недоста-

ность для большинства пациентов эффективной, своевременной диагностики и лечения. Применение эффективной терапии ограничено устаревшими подходами и стандартами оказания медицинской помощи, **основанными главным образом на гематологических критериях начала лечения.** Современные рекомендации по лечению лимфатических опухолей, сопровождающихся секрецией моноклонального парапротеина, предполагают проведение специфической терапии при наличии клинических показаний. Эта практика в настоящее время подвергается пересмотру, в особенности у пациентов с множественной миеломой (ММ). Моноклональный лимфоцитоз и моноклональная гаммапатия неопределенного значения (МГНЗ) в современных определениях расцениваются не как болезни, а как состояния предрасположенности к лимфатическим опухолям с разным риском трансформации и поэтому не подлежат терапии. Такой подход не является верным в отношении МГРЗ, при которой «небольшой» клон опасен и угрожает жизни [7–11], а своевременная терапия приводит к значимому улучшению прогноза [12–15]. Настоящий консенсус ведущих гематологов и нефрологов страны призван наметить пути практического решения проблем диагностики и лечения МГРЗ в Российской Федерации, критичных для этой категории больных.

Понятие о моноклональной гаммапатии ренального значения

Под моноклональной гаммапатией (МГ) понимают наличие aberrантного клона В-клеточной линии дифференци-

ровки, продуцирующего молекулу иммуноглобулина (Ig) или ее части. Современный взгляд в отношении группы нозологий, обусловленных МГ, и место МГРЗ в классификации представлены на **рис. 1**. Клон – популяция клеток, возникшая из одной клетки-предшественницы и наследующая все ее свойства, в том числе способность продуцировать моноклональный парапротеин. Вырабатываемый моноклональный белок, называемый парапротеином, или М-протеином, может обладать патологическими свойствами, которые реализуются различными путями, включая депозицию в органах и тканях, приводя к их повреждению. Клональные

клетки могут продуцировать полноразмерную молекулу Ig или его часть (только легкую цепь – ЛЦ или только тяжелую цепь). Возможны случаи с продукцией двух изотипов ЛЦ, двух и более полноразмерных Ig. В зависимости от этапа дифференцировки В-клеток клональную пролиферацию можно разделить на:

- 1) лимфоцитарную;
- 2) лимфоплазмочитарную;
- 3) плазмклеточную.

Классификация МГ на основании типа клональной линии, а также критерии каждого из состояний приведены в **табл. 1** [16–20]. Клинические проявления МГ связаны с:

- а) увеличением опухолевой массы;
- б) патологическими эффектами Ig.

Основная часть случаев МГ протекает субклинически, что отражает более ранние стадии болезни и входит в понятие МГНЗ (или моноклонального В-клеточного лимфоцитоза – МВЛ в случае лимфоцитарной пролиферации). В большинстве случаев МГНЗ продуцируемый парапротеин не обладает нефротоксичностью (т.е. способностью оказывать то или иное повреждающее воздействие на орган). Это состояние имеет благоприятное течение с частотой прогрессирования в злокачественную форму около 1% в год [21–23]. Для оценки низкого, промежуточного и высокого риска трансформации МГНЗ используют шкалы, основанные на оценке соотношения свободных ЛЦ и количества М-протеина, а лечение начинают только при появлении клинических симптомов опухоли (**см. табл. 1**). В качестве примера можно привести шкалу оценки риска прогрессирования МГНЗ в ММ, разработанную в клинике Мэйо [24]. Увеличение массы опухоли приводит к поражению органов в виде симптомов CRAB (C – hypercalcemia; R – renal insufficiency; A – anemia; B – bone lesions) при ММ; лимфоаденопатии, гепатоспленомегалии, признаков неопластического подавления кроветворения и прочих – при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) и макроглобулинемии Вальденстрема (МВ). Появление таких симптомов является показанием к лечению. Другая часть клинического спектра обусловлена эффектами парапротеина и его повреждающим действием на ткани и органы, включая почки. Симптомы, обусловленные парапротеином, могут возникать даже при низкой опухолевой массе и небольшой концентрации парапротеина в циркуляции. Концепция «небольшого, но опасного клона» при МГ, впервые предложенная G. Merlini и M. Stone в 2006 г. [25], предполагает клинически доминирующие органные поражения и ухудшение прогноза, вызванные патологическими эффектами парапротеина, но не прогрессией опухоли как таковой. Для описания подобных случаев недавно предложен термин «МГ клинического значения» [26].

МГРЗ – термин, который дифференцирует известное понятие МГНЗ, выводя ряд клинических случаев из рамок «неопределенности». МГРЗ также характеризуется клоном, который ниже уровня, соответствующего критериальному диагнозу ММ или лимфопролиферативного заболевания, требующего начала лечения. По данным НИИ нефрологии, среднее значение плазматизации костного мозга при МГРЗ составило 2,2%, а уровень парапротеина в сыворотке – 1,1 г/л [4]. Вместе с тем в отличие от случаев МГНЗ продуцируемый

Сведения об авторах:

Смирнов Алексей Владимирович – д.м.н., проф., дир. НИИ нефрологии, зав. каф. пропедевтики внутренних болезней с клиникой ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова». ORCID: 0000-0001-7863-9080

Афанасьев Борис Владимирович – д.м.н., проф., дир. НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии костного мозга им. Р.М. Горбачевой, зав. каф. гематологии, трансфузиологии, трансплантологии фак-та постдипломного образования ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова». ORCID: 0000-0002-1235-4530

Поддубная Ирина Владимировна – акад. РАН, д.м.н., проф., зав. каф. онкологии ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0002-0995-1801

Добронравов Владимир Александрович – д.м.н., проф., зам. дир. НИИ нефрологии по научной работе ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова». ORCID: 0000-0002-7179-5520

Захарова Елена Викторовна – к.м.н., доц. каф. нефрологии ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова», доц. каф. нефрологии и диализа ФГБОУ ДПО РМАНПО, зав. отд-нием нефрологии ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина». ORCID: 0000-0003-0178-7549

Никитин Евгений Александрович – д.м.н., проф. каф. гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ДПО РМАНПО, зав. дневным стационаром гематологии, онкологии и химиотерапии ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина». ORCID: 0000-0002-2490-1263

Лысенко (Козловская) Лидия Владимировна – д.м.н., проф. каф. внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). ORCID: 0000-0002-1166-7308

Бобкова Ирина Николаевна – д.м.н., проф. каф. внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины, научно-исследовательский отд. здоровьесберегающих технологий Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). ORCID: 0000-0002-8007-5680

Рамеев Вилен Вилевич – к.м.н., доц. каф. внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). ORCID: 0000-0003-4260-0226

Батюшин Михаил Михайлович – д.м.н., проф. каф. внутренних болезней №2 ФГБОУ ВО РостГМУ. ORCID: 0000-0002-2733-4524

Моисеев Иван Сергеевич – д.м.н., доц. каф. гематологии, трансфузиологии, трансплантологии фак-та постдипломного образования ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова», зам. дир. НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии костного мозга им. Р.М. Горбачевой. ORCID: 0000-0002-4332-0114

Дарская Елена Игоревна – к.м.н., зав. отд-нием трансплантации костного мозга для взрослых НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии костного мозга им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»

Пирогова Ольга Владиславовна – к.м.н., ст. науч. сотр. НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии костного мозга им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»

Менделеева Лариса Павловна – д.м.н., проф., зам. ген. дир. по научной работе и инновациям ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0002-4966-8146

Бирюкова Людмила Семеновна – д.м.н., проф., доц. каф. нефрологии и диализа ФГБОУ ДПО РМАНПО, зав. отд. полиорганной патологии и гемодиализа ФГБУ «НМИЦ гематологии»

Контактная информация:

Храброва Мария Сергеевна – к.м.н., доц. каф. пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова». Тел.: +7(812)338-69-01; e-mail: hrbrovamc@gmail.com; ORCID: 0000-0002-8141-4488



Рис. 1. Клинические варианты МГ.

Примечание. MDE – myeloma defined events.

M-протеин при МГРЗ обладает нефротоксичностью и приводит к клинически значимому повреждению почек, а также других органов. Нефротоксичный Mlg может вырабатываться как при низкой, так и большой опухолевой массе. Если имеют место основания для критериального диагноза злокачественной пролиферации клона В-клеточной линии дифференцировки и поражения почек, это говорит о том, что продуцируемый парапротеин нефротоксичен. Такие случаи не относят к МГРЗ, при формулировке диагноза на первое место ставят гематологическую опухоль, а поражение почек считают осложнением. В случае нефротоксичности моноклонального парапротеина и «небольшого» клона диагноз должен быть определен как МГРЗ с расшифровкой характера поражения почек, ключевым в определении которого является морфологическое исследование почечной ткани. Согласно консенсусу Международной группы по изучению поражения почек и моноклональной гаммапатии 2019 г. [2] понятие МГРЗ расширено по сравнению с консенсусом 2012 г. [1]. В группу МГРЗ дополнительно включены такие В-клеточные/плазмноклеточные пролиферации, как «тлеющая ММ, тлеющая МВ, МВЛ, а также ХЛЛ и лимфомы низкой степени злокачественности (лимфома маргинальной зоны, мантийноклеточная лимфома, MALT-лимфома)» – состояния, при которых клон продуцирует нефротоксичный Ig, но при этом не требует терапии по онкогематологическим показаниям.

Эпидемиология

Поражение почек, обусловленное парапротеином, – нечастая патология в структуре болезней почек. По данным НИИ нефрологии, распространенность патологии почек, связанной с каким-либо вариантом МГ, составляет 7,5% среди всех пациентов, которым выполнена диагностическая нефробиопсия. При этом МГРЗ выявлена у 4% пациентов [4]. Эти цифры соотносятся с данными, представленными в мировой литературе [11, 28]. По данным Минздрава России, заболеваемость гломерулярными, тубулоинтерстициальными болезнями почек, другими болезнями почек и мочеточника в 2017 г. составила 255 случаев на 100 тыс. взрослого населения. Принимая во внимание, что существенная часть этих случаев представлена заболеваниями, для диагностики которых не требуется выполнения морфологического исследования нефробиоптата (инфекционный тубулоинтерстициальный нефрит, рефлюкс-нефропатия и пр.), и частоту МГРЗ 4%, основанную на морфологической ве-

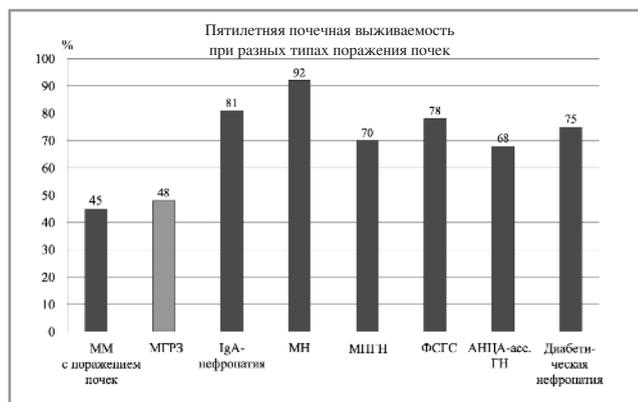


Рис. 2. Почечный прогноз при ММ с поражением почек, МГРЗ и других нефропатиях (по данным НИИ нефрологии).

Примечание. АНЦА-асс. ГН – гломерулонефрит, ассоциированный с антителами к цитоплазме нейтрофилов, МПГН – мембранопротеративный ГН, МН – мембранозная нефропатия, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз.

рификации диагноза, можно заключить, что заболеваемость МГРЗ, в целом близка к критериям орфанного заболевания (10,2 случая на 100 тыс. взрослого населения в год).

Прогноз

МГРЗ нельзя считать доброкачественным состоянием, поскольку клон за счет эффектов парапротеина неуклонно ведет к прогрессии дисфункции почек и в итоге – к гибели органа (терминальной стадии хронической болезни почек – ХБП). Медико-экономическое значение ХБП определяется резким увеличением рисков нефатальных и фатальных событий, инвалидизацией больных, а также значительными расходами на проведение диализа [29–33]. Почечный прогноз при МГРЗ сопоставим с таковым при ММ с поражением почек и значительно хуже, чем при других вариантах нефропатий (рис. 2). Кроме того, при наличии МГРЗ риск прогрессии клона в злокачественный выше, а значит, хуже прогноз в отношении продолжительности жизни. Так, риск трансформации клона в злокачественную форму при МГРЗ в 3,3 раза выше и в течение первого года составляет 10% [11], что сопоставимо с частотой прогрессирования тлеющей ММ в симптоматическую [34].

Обоснование необходимости введения нозологической группы МГРЗ

Неблагоприятное прогностическое значение МГРЗ делает очевидным необходимость лечения такого «неопасного», с формальной точки зрения классической онкогематологии, клонального процесса [2]. Подобный «прецедент» хорошо известен в онкогематологии – это системный AL-амилоидоз, тяжелое заболевание с минимальным клоном плазмочитов в костном мозге, но крайне неблагоприятным в отсутствие лечения прогнозом, которое длительное время являлось предметом неразрешимых противоречий между гематологами и нефрологами. Достаточно давно разработаны и применяются, в том числе в России, эффективные схемы химиотерапии AL-амилоидоза, направленные на элиминацию опухолевого клона [35–38]. Такая же лечебная стратегия должна быть применена и при неамилоидных формах поражения почек, ассоциированных с МГ [12, 39–43]. Преодоление стереотипа лечения только злокачественного клона в международной практике происходило поэтапно по мере накопления данных в отношении

Таблица 1. Классификация и критерии МГ (N. Leung и соавт. [2], с изменениями)

Тип клона	Болезнь	Объем клона в костном мозге/периферической крови	М-градиент в периферической крови	Конечное органное повреждение внутренних органов (критерии для начала лечения)
Клон ПК	МГНЗ	<10 %	<30 г/л	Нет
	Тлеющая (индолентная) миелома	10–60 %	≥30 г/л	Нет
	ММ (симптоматическая)	≥10 % или плазмацитома	≥30 г/л	Есть*
Клон лимфоплазмочитарной линии	IgM-МГНЗ	<10 %	<30 г/л	Нет
	Тлеющая МВ	>10 %	≥30 г/л	Нет
	МВ (симптоматическая)	>10 %	≥30 г/л	Есть**
Клон В-лимфоцита	МВЛ	Моноклональные В-клетки в периферической крови <5×10 ⁹ /л	Любой	Нет лимфоаденопатии
	ХЛЛ	Моноклональные В-клетки в периферической крови >5×10 ⁹ /л	Любой	Есть***
	Другие формы В-клеточного лимфопролиферативного заболевания	+/-	Любой	

*CRAB [15]: С – hypercalcemia – гиперкальциемия, R – renal insufficiency – «почечная недостаточность» в нефрологической литературе является устаревшим термином. В данном случае речь идет о цилиндровой нефропатии (ЦН), которая проявляет себя острым повреждением почек (ОПП). Ранее критерий подразумевал креатинин сыворотки более 0,177 ммоль/л, в настоящее время добавлен и клиренс креатинина ниже 40 мл/мин [18]. Факт ОПП не указан как неотъемлемое условие. Прежде чем руководствоваться данным критерием, необходимо убедиться, что у пациента отсутствует поражение почек какой-либо другой этиологии (диабетическая нефропатия, нефроангиосклероз вследствие артериальной гипертензии и др.). В противном случае назначение токсичного лечения таким пациентам может сопровождаться тяжелыми побочными реакциями. А – anemia – анемия. В – bone lesions – повреждение костей.

События, определяющие миелому (MDE) [16]:

- >60% ПК в костном мозге;
- соотношение вовлеченной/невовлеченной свободной ЛЦ сыворотки >100;
- >1 фокального очага вовлечения костного мозга по магнитно-резонансной томографии диаметром более 5 мм.

** Показания для начала лечения МВ [17, 27]:

- Симптомы, ассоциированные с ростом опухолевой массы: лимфоаденопатия, спленомегалия, гепатомегалия, органомегалия, анемия, тромбоцитопения, В-симптомы.
- Симптомы, ассоциированные с гиперпродукцией IgM: криоглобулинемия, иммунная гемолитическая анемия и/или тромбоцитопения, нефропатия, нейропатия, амилоидоз, синдром гипервязкости (повышение вязкости крови вследствие крайне высокого содержания белка в плазме за счет парапротеина с развитием следующих симптомов: кровоточивость слизистых, неврологический дефицит, нарушение зрения), уровень IgM>50 г/л.

***Симптоматическая лимфоаденопатия/цитопения/спленомегалия/органомегалия/В-симптомы.

патофизиологии МГ, что отражено в ряде работ первого десятилетия XXI в. [7, 25, 44–46]. Наиболее значимой вехой стала известная работа N. Leung и соавт., опубликованная в 2012 г. в журнале Blood от имени Международной группы по изучению почек и моноклональной гаммапатии (International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group) [1]. Название этой статьи – Monoclonal gammopathy of renal significance: when MGUS is no longer undetermined or insignificant («Моноклональная гаммапатия ренального значения: когда моноклональная гаммапатия неопределенного значения становится определенной и значимой») – раскрывает существенные перемены в понимании ведущими гематологами и нефрологами мира проблемы поражения почек при МГ и осознании необходимости лечения подобного со-

стояния. Впоследствии опубликованы многочисленные статьи по этой проблематике [47–50], интерес к которой со стороны в первую очередь нефрологов обусловлен возможностью эффективного этиотропного лечения, минимизации/устранения эффектов нефротоксического М-протеина, а в результате – улучшения общего и почечного прогноза. Признание зарубежными медицинскими сообществами, в том числе Международной рабочей группой по миеломе (International Myeloma Working Group) [18], взаимосвязи клона и поражения почек – МГРЗ – открыло возможность назначения таким пациентам высокоэффективной химиотерапии. Терапевтическое воздействие, направленное на подавление клона, оказалось эффективным как в отношении почечных исходов, так и общей выживаемости [7, 9, 12–14].

Механизмы и структура поражения почек при МГ

Механизмы воздействия парапротеина на почечную ткань и структуры организма крайне разнообразны и пока окончательно не выяснены [26, 51]. В силу особенностей строения и соответствующим образом измененных физико-химических свойств самой молекулы парапротеина, а также действия местных факторов аномальные Ig и/или ЛЦ способны:

- 1) оказывать токсическое влияние на клетки;
- 2) действовать наподобие антител по отношению к различным молекулам;
- 3) активировать иммунную систему, в частности систему комплемента;
- 4) взаимодействовать с мезангиоцитами и другими клетками нефрона и аккумулироваться в виде депозитов различной структуры, например в виде амилоидных фибрилл.

При МГРЗ патологическое действие Mlg может быть реализовано на уровне любого компартмента нефрона: клубочка, канальцев, интерстиция, сосудов [52]. Отсюда происходит и разнообразие клинических проявлений МГРЗ, которое может заключаться в любом синдроме поражения почечной паренхимы или их комбинации (рис. 3, см. на цветной вклейке). В связи с тем, что клон ПК или В-лимфоцита «небольшой» и, как правило, не вызывает явных симптомов, ассоциированных с опухолью, **пациенты с МГРЗ, имеющие преимущественно почечные проявления, первично оказываются пациентами нефролога**, обращаясь по поводу развития «почечных» симптомов (артериальной гипертензии, отеков, гематурии, протеинурии, дисфункции почек и др.). На рис. 4 (см. на цветной вклейке) представлены варианты нефропатий, ассоциированных с МГ, по данным отделения нефрологии ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина» и клиники НИИ нефрологии ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова».

В зависимости от профиля и научно-практической направленности стационара структура ассоциированных с МГ поражений почек может различаться при сохранении тенденции к доминированию AL-амилоидоза. Так, по данным многопрофильного терапевтического стационара ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Клиники им. Е.М. Тареева, диагностированы 276 больных с МГ, в том числе у 51% выявлен AL-амилоидоз [3]. Среди неамилоидных нефропатий ($n=63$, 23%) при эквивалентной частоте в сравнении с выборкой ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина» морфологически подтвержденного хронического ГН (МПГН – 4%, ФСГС – 1%, мембранозный – 1%, минимальные мезангиальные изменения – 1%) более значительную часть (6%) занимает криоглобулинемический ГН (КриогН), в основном при НCV-ассоциированной криоглобулинемии 2-го типа, меньшая часть приходится на болезни депозиции Mlg (1%) и ЦН (1%).

МГРЗ и структура МКБ

Признание международным сообществом МГРЗ как отдельной нозологии находит отражение и в Международной классификации болезней (МКБ). Проект МКБ-11, представленный на официальном сайте [53] и планируемый к утверждению в 2019 г., включает два наиболее распространенных варианта поражения почек при МГ – AL-амилоидоз и болезнь отложения Mlg (Randall type monoclonal immunoglobulin deposition disease – MIDD). В новой версии МКБ MIDD – подраздел главы «Плазмоклеточные новообразования» (2A83.0).

Изложенное является основанием для признания МГРЗ как отдельной нозологической группы в структуре МГ, в

Таблица 2. Перечень нозологий для включения в группу МГРЗ

AL-амилоидоз
AN-амилоидоз
БОЛЦ Ig
БОТЦ Ig
БОЛТЦ Ig
ПГНМИД
Иммунотактоидный ГН
Моноклональный фибриллярный ГН
Кристаллическая подоцитопатия, ассоциированная с МГ
С3-гломерулопатия, ассоциированная с МГ
Тромботическая микроангиопатия, ассоциированная с МГ
КриогН в рамках криоглобулинемии 1 или 2-го типа
Проксимальная тубулопатия, ассоциированная с ЛЦ
Кристаллический гистиоцитоз
Тубулоинтерстициальный нефрит, ассоциированный с МГ
(Крио)кристаллглобулинемический ГН
Иные формы гломерулопатий, связь которых с МГ доказана, в том числе анти-ГБМ-нефрит, ассоциированный с МГ, и МН, ассоциированная с МГ

том числе на уровне управления органами здравоохранения РФ. Нозологии, которые входят в группу МГРЗ, представлены в табл. 2.

Гематологи и нефрологи – авторы настоящего консенсуса – на период до появления в РФ перевода на русский язык текста МКБ-11 пришли к заключению о необходимости применения кодов МКБ-10 для характеристики разных вариантов МГРЗ (табл. 3). В случае поражения почек, ассоциированного с МГ, следует комбинировать код гематологической нозологии с кодом нефрологической нозологии.

Мультидисциплинарный подход к диагностике и лечению МГРЗ

МГРЗ – проблема, находящаяся на стыке двух специальностей – гематологии и нефрологии, для решения которой **требуется мультидисциплинарный подход**.

В рамках реализации последнего задачей гематолога является верификация клональности, а на заключительном этапе принятия решения о характере клон-ориентированной терапии, т.е. терапии, которая направлена на контроль пролиферации клона, включающей методы высокодозной химиотерапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Необходимость участия нефролога обусловлена тем, что при МГРЗ продуцируется нефротоксичный М-протеин, который приводит к самым разным типам поражения почек и ренальной дисфункции. Клинико-морфологический паттерн МГРЗ трудно дифференцировать от других многочисленных патологий, не связанных с МГ, без применения и интерпретации сложных методов поэтапных исследований.

Диагностика МГРЗ

Для установления диагноза МГРЗ необходимо:

- 1) определить наличие клона В-клеточной линии дифференцировки;
- 2) установить специфичность поражения почек, обусловленного воздействием продуцируемого клоном моноклонального белка. В этой связи диагностика включает гематологические и нефрологические методы исследования [2, 52]. Принимая во внимание существенное разнообразие

Таблица 3. Кодирование поражений почек, ассоциированных с МГ, по МКБ-10

Тип клона	Номенклатура в зависимости от степени пролиферации клона и код гематологической нозологии	Тип МГРЗ и код нефрологической нозологии
Клон ПК	МГНЗ D47.2 Моноклональная гаммапатия неопределенного значения D89.1 Криоглобулинемия	Неамилоидное поражение почек
	Тлеющая (индолентная) миелома C90 Множественная миелома и злокачественные плазмоклеточные новообразования AL/АН-амилоидоз E85.8 Другие формы амилоидоза	N00–08 Гломерулярные болезни, в том числе N08.1 Гломерулярные болезни при новообразованиях (ММ, МВ) N08* Гломерулярные поражения при болезнях, классифицированных в других рубриках
Клон лимфоплазматической линии	IgM-МГНЗ D47.2 Моноклональная гаммапатия неопределенного значения D89.1 Криоглобулинемия D89.8 Другие уточненные нарушения с вовлечением иммунного механизма, не классифицированные в других рубриках	N10–16 Тубулоинтерстициальные болезни почек, в том числе N16* Тубулоинтерстициальные поражения почек при болезнях, классифицированных в других рубриках
	Тлеющая МВ C88.0 МВ	N16.1 Тубулоинтерстициальное поражение почек при новообразованиях (лейкозе, лимфоме, ММ)
Клон В-лимфоцита	МВЛ D 72.8 Другие уточненные нарушения белых кровяных клеток	N17–19 Почечная недостаточность Амилоидоз
	ХЛЛ В-клеточная неходжкинская лимфома C91.1 Хронический лимфоцитарный лейкоз C82 Фолликулярная неходжкинская лимфома C83 Диффузная неходжкинская лимфома D89.1 Криоглобулинемия	Могут быть применимы вышеуказанные коды, а также N08.4 Гломерулярные болезни при амилоидозе

вариантов поражения почек МГРЗ, очевидно, что ключевым этапом диагностики этого состояния является морфологическое исследование почечной ткани [54]. Результат гистологического исследования и клинико-морфологический анализ раскрывают особенности МГРЗ в каждом конкретном случае, а также несут крайне важную для нефролога информацию в отношении почечного прогноза.

Морфологическая диагностика МГРЗ

С целью полноценной диагностики МГРЗ морфологическое исследование почечной ткани должно включать:

- 1) **светооптическое исследование** с применением окрасок: гематоксилин/эозин, ШИК-реакция, серебрение по Джонсу, Конго-рот, трихромальная окраска по Массону, окраска на эластические волокна;
- 2) **иммуноморфологическое исследование**: иммунофлюоресценция (ИФ) или иммуногистохимия (ИГХ) для выявления в почечной паренхиме депозитов молекул МIg [панель антител к IgA, IgM, IgG (типирование IgG), IgD, kappa, lambda, C3, C1q]. В ряде случаев иммуноморфологические методы должны быть дополнены энзимным демаскированием эпитопов антигенов МIg, что позволяет более эффективно диагностировать МГРЗ, когда результаты не дают рутинные ИГХ/ИФ-исследования [55–57]. С целью дифференциальной диагностики фибриллярного ГН, депозиты при котором могут обладать конгофильностью, при-

меняют ИГХ-исследование на DNAJB9 – белок семейства шаперонов, крайне специфичный для этого типа ГН [58, 59];

3) **ультраструктурное исследование** позволяет оценить степень повреждения структур почки на субмикроскопическом уровне и характер депозитов, образованных моноклональным белком (организованные, неорганизованные). Последнее является ключевым в дифференциальной диагностике таких форм МГРЗ, как иммунотактоидный, фибриллярный, КриоГН и др. Иногда с целью детекции моноклонального белка исследование может быть дополнено ультраструктурной ИГХ с мечеными наночастицами золота [60, 61].

На завершающих этапах морфологической дифференциальной диагностики МГРЗ в рамках omics-технологий, и в частности протеомики, в некоторых зарубежных центрах применяют лазерную микродиссекцию с последующим разделением белковых компонентов почечной ткани методом капиллярного электрофореза и идентификацией молекулярного состава с помощью MALDI-TOF (матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация с времяпролетным анализом и визуализирующей масс-спектрометрией) [54, 62, 63].

Описанные подходы к морфологической диагностике должны быть осуществлены исключительно в высокоспециализированной и хорошо оснащенной морфологической лаборатории, где все необходимые методики будут применены и оценены опытным нефропатологом.

Таблица 4. Препараты и методы, применяемые для лечения клональной пролиферации В-клеточной линии [17]

Цитостатики (циклофосфамид, бендамустин, хлорамбуцил, флударабин, доксорубин, винкристин, мелфалан и др.)
Кортикостероиды (дексаметазон, преднизолон)
Ингибиторы протеасом (бортезомиб, карфилзомиб, др.)
Моноклональные антитела (анти-CD20 – ритуксимаб, обинутумаб, офатумумаб; анти-CD38 – даратумумаб и пр.)
Ингибиторы тирозинкиназы Брутона (ибрутиниб)
Иммуномодуляторы (леналидомид, помалидомид и др.)
Высокодозная полихимиотерапия с последующей аутоТГСК крови

Гематологическая диагностика МГРЗ

Цель гематологического обследования – выявление парапротеина и клона В-клеточной линии дифференцировки. Объем обследования соответствует таковому при ММ, В-лимфоме или МВ и подробно описан в соответствующих рекомендациях [17–21, 27].

Для успешной верификации «небольшого» клона важным является применение высокочувствительных методик, позволяющих обнаруживать даже небольшой клон и малое количество парапротеина: иммунофенотипирование костного мозга, генетические исследования, иммунофиксация сыворотки крови и мочи, определение в сыворотке свободных ЛЦ методом Freelite или иными методами, сопоставимость которых с Freelite доказана. Данные методики считаются основой не только для первичной гематологической диагностики, но и для оценки эффективности лечения и прогрессии заболевания.

Лечение МГРЗ

На мультидисциплинарном подходе должно быть основано и лечение МГРЗ – клон-ориентированное и включать известные препараты и схемы химиотерапии, применяемые при ММ, В-лимфоме, ХЛЛ и МВ [16–20, 27, 39, 42, 64, 65]. Кратко современные подходы к этиотропной терапии МГРЗ отражены в табл. 4. Цель лечения – снижение продукции патогенных ЛЦ/Ig, уменьшение отложения парапротеина в органах и тканях, предупреждение дальнейшего прогрессирования их дисфункции, а также предотвращение трансформации клона в злокачественную форму [11]. Помимо химиотерапии в качестве опции лечения МГРЗ должна рассматриваться высокодозная полихимиотерапия с поддержкой аутотрансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК).

В задачи комплексного нефрологического сопровождения терапии входят разнообразные мероприятия, заключающиеся в коррекции дозировок препаратов с учетом их потенциальной нефротоксичности, профилактике и лечении ОПП, по воздействию на специфические патогенетические механизмы повреждения почек (лечение тромботической микроангиопатии, иммунокомплексного повреждения органа, увеличение клиренса депозитов Ig), оценке функций почек в динамике и коррекции их нарушений, оценке почечного ответа, а также применение методов экстракорпоральной элиминации ЛЦ. К последним относятся методы заместительной почечной терапии, например гемодиализ/гемодиализация с применением мембран «высокой отсечки» (high cut-off membrane), а также SUPRA-HFR (haemodiafiltration with ultrafiltrate regeneration by adsorption on resin). Эти методики позволяют удалить свободные ЛЦ из организма и снизить их токсическое действие на ткани и органы, способствуя повышению эффективности лечения [66–68]. Важным также является подготовка потенциальных реципиентов аллотрансплантата почки и включение таких больных в лист ожидания. С учетом высокой частоты воз-

врата МГРЗ в трансплантат почки первым этапом необходимо проводить клон-ориентированную терапию и консолидацию гематологического ответа с помощью аутоТГСК [69].

Консенсус не преследует цели подробно осветить методы лечения МГРЗ. Вопросы терапии обсуждаемой нозологии будут подробно описаны в виде клинических рекомендаций в дальнейшем.

Проблемы лечения МГРЗ в РФ

В настоящее время в практической медицине в РФ МГРЗ не рассматривается как нозология, а таких пациентов формально относят к группе МГНЗ или случаям В-клеточной пролиферации без критериев для начала терапии. В результате традиционных, но сейчас устаревших представлений о том, что в случаях МГ лечение должен подвергаться исключительно злокачественный опухольный клон, эффективной клон-ориентированной химиотерапией (бортезомиб, леналидомид, ритуксимаб и др.) обеспечены только пациенты со злокачественными формами МГ – ММ, лимфомами, ХЛЛ. В то же время пациенты с МГРЗ (включая AL-амилоидоз), не соответствующей формальным критериям злокачественности, не входят в программы обеспечения необходимыми лекарствами (Федеральный закон от 03.08.2018 №299 «О внесении изменений в Федеральный закон "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации"») и остаются без возможности получить адекватную характеру и прогнозу болезни терапию. Безусловно, в отношении МГРЗ подобный подход неприемлем. Недоступность лечения, обусловленная в первую очередь тем, что диагноз «в списках не значится», а также непониманием истинной природы болезни и недооценкой ее клинико-прогностического значения, губительна для больных [70]. Пациенты с данной патологией должны быть обеспечены необходимыми препаратами и возможностью проведения лечения в рамках финансирования по каналу высоких технологий, включая аутоТГСК.

Предпосылки для создания онконейрологического центра

Патология почек, ассоциированная с МГ, стоит на стыке двух специальностей – гематологии и нефрологии. Понимание крайней актуальности этой проблемы в мире привело к возникновению новой узкоспециализированной области – онконейрологии [71, 72]. Очевидно, что диагностика МГРЗ, наблюдение и лечение таких пациентов должны осуществляться в специализированном онконейрологическом центре. Опыт создания и работы таких центров реализован на рубеже [73]. Создание онконейрологического центра в РФ возможно на базе многопрофильного стационара, имеющего в своем составе отделения гематологии, нефрологии, заместительной почечной терапии, трансплантации стволовых клеток и почки. Другим определяющим моментом является наличие соответствующих диагностических ресурсов, включая иммуноморфологическую лабораторию, обладающую необходимыми для полноценной диагностики МГРЗ

методиками. Следует отметить, что интересы онконефрологии не ограничиваются только заболеваниями почек, ассоциированными с МГ, но включают ОПП в результате лечения опухолевых процессов, поражения почек, ассоциированные с солидными опухолями и трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток, вторичные опухоли у больных с почечным аллографтом и т.д. [74].

Заключение консенсуса гематологов и нефрологов по МГРЗ

МГРЗ – это не самостоятельное заболевание почек, не «хронический ГН», а состояние, при котором поражение почек вторично по отношению к клональной В-клеточной пролиферации. Иными словами, МГРЗ – это предопухолевое заболевание в сочетании с ХБП, которое требует незамедлительного начала лечения. Последнее, однако, невозможно для пациентов в РФ в связи с отсутствием диагноза МГРЗ в перечне нозологий, а значит, отсутствием помощи при этой патологии.

В рамках данного консенсуса нефрологи и гематологи ведущих клиник страны пришли к общему мнению в отношении МГРЗ и выносят на рассмотрение профессионального сообщества и органов управления здравоохранением РФ ряд предложений, реализация которых позволит существенно улучшить ситуацию в диагностике и лечении этой категории больных.

Заключительные положения консенсуса

1. МГРЗ представляет собой группу заболеваний, при которых повреждение почек происходит в результате патологического действия моноклонального белка (Ig или его части), продуцируемого опухолевым клоном В-клеточной линии дифференцировки. При этом критериев, позволяющих начать специфическую терапию лимфатической опухоли, нет.
2. МГРЗ – гетерогенная группа заболеваний, при которой результат воздействия моноклонального белка на почечную ткань может быть различным, однако неизбежно приводит к прогрессирующей дисфункции почек, вплоть до полной утраты функции органа и к уменьшению продолжительности жизни.
3. Принимая во внимание крайне неблагоприятный прогноз в отношении функции почек и жизни, МГРЗ должна быть включена в реестр «жизнеугрожающих и хронических прогрессирующих (орфанных) заболеваний, приводящих к сокращению продолжительности жизни пациентов или их инвалидности», в виде общего названия, объединяющего ряд отдельных нозологий, включая AL-амилоидоз, болезнь отложения моноклональных депозитов и др. (см. табл. 2).
4. При МГРЗ диагностика клональной пролиферации требует выполнения иммунофенотипических и молекулярных исследований, направленных на выявление «небольшого» клона, включая выявление парапротеина в крови и моче с использованием иммунофлюоресценции и определения свободных ЛЦ методом FreeLite или иными методами, сопоставимость которых с FreeLite доказана. Данные методики должны быть доступны в первую очередь в специализированных онкогематологических центрах, а также в других крупных стационарах РФ, так как являются основой не только для первичной гематологической диагно-

стики, но и для оценки эффективности лечения и прогрессии заболевания.

5. Наряду с выявлением опухолевого клона диагностика МГРЗ требует обязательного проведения биопсии почки с морфологическими исследованиями, позволяющими подтвердить специфическое поражение органа. Морфологическое исследование нефробиоптата должно включать светооптический, иммуноморфологический, ультраструктурный методы. Основным признаком МГРЗ являются организованные и/или неорганизованные депозиты парапротеина моноклональной природы в компартментах почки. Тип моноклонального парапротеина, выявленного в сыворотке крови или моче, должен совпадать с типом моноклонального белка, определенного морфологически и вызвавшего поражение почек.
6. Диагноз МГРЗ должен быть обсужден консилиумом в составе гематолога, нефролога и почечного патолога и основан на констатации патогенетической связи поражения почек и имеющейся моноклональной пролиферации – клона В-лимфоцита/ПК и/или выявленного в сыворотке/крови парапротеина.
7. Любой вариант МГРЗ требует начала клон-ориентированного лечения, финальной целью которого является сохранение функции почек и предупреждение прогрессирования клона в сторону опухолевого процесса. Характер химиотерапии зависит от типа клональной пролиферации. Лечение должно быть назначено и проведено на мультидисциплинарной основе в соответствии с типом клона/парапротеина и особенностями повреждения почек гематологом и нефрологом, имеющими подобный опыт.
8. Группу онкогематологических болезней, объединенных термином МГРЗ, необходимо включить в перечень патологий, требующих назначения дорогостоящих химиотерапевтических препаратов. Пациенты должны получать лечение в рамках канала финансирования «высокие технологии».
9. Консолидация гематологического ответа может быть достигнута с помощью проведения высокодозной полихимиотерапии с последующей аутоТГСК, в связи с чем целесообразно расширить показания для аутоТГСК и включить в стандарты оказания данного вида помощи помимо AL-амилоидоза и другие типы МГРЗ.
10. С целью успешной диагностики, своевременного эффективного лечения МГРЗ и долгосрочного наблюдения за пациентами с данной патологией целесообразно открытие специализированных отделений/центров онконефрологии в учреждениях, имеющих соответствующие ресурсы для диагностики и лечения и квалифицированные врачебные кадры, имеющие соответствующий опыт в онкогематологии и нефрологии.
11. На основании положений консенсуса целесообразно создание национальных рекомендаций по этой клинической проблеме.

С данным документом ознакомились и выразили солидарность от имени профессиональных сообществ участники консенсуса.

От имени Ассоциации нефрологов России и Научного общества нефрологов России

ФИО, город	Должность, место работы
Ватазин Андрей Владимирович, Москва	Д.м.н., проф., президент Ассоциации нефрологов, рук. хирургического отделения трансплантации почки ГБУЗ «МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», гл. внештат. специалист-нефролог Минздрава России по ЦФО, зам. председателя профильной комиссии Минздрава России по специальности «Нефрология»
Каюков Иван Глебович, Санкт-Петербург	Д.м.н., проф., проф. каф. нефрологии и диализа, зав. лаб. клинической физиологии почек НИИ нефрологии, ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»
Кучер Анатолий Григорьевич, Санкт-Петербург	Д.м.н., проф., проф. каф. пропедевтики внутренних болезней с клиникой, зам. дир. по лечебной работе Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»
Попова Светлана Ивановна, Самара	Зав. нефрологическим отделением (амбулаторным) консультативной поликлиники главного корпуса ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. В.Д. Середавина»
Прокопенко Елена Ивановна, Москва	Д.м.н., проф. каф. трансплантологии, нефрологии и искусственных органов ГБУЗ «МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», председатель Ассоциации нефрологов ЦФО
Пуштов Алексей Александрович, Самара	Зав. нефрологическим отделением ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. В.Д. Середавина», гл. внештат. специалист по нефрологии Министерства здравоохранения Самарской области
Румянцев Александр Шаликович, Санкт-Петербург	Д.м.н., проф. каф. пропедевтики внутренних болезней с клиникой ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова», проф. каф. факультетской терапии медицинского факультета ФГБОУ ВО СПбГУ

От имени Национального гематологического общества, Российского общества онкогематологов

ФИО, город	Должность, место работы
Давыдкин Игорь Леонидович, Самара	Д.м.н., проф., зав. каф. и клиникой госпитальной терапии с курсом поликлинической терапии и трансфузиологии, проректор по научной и инновационной работе, гл. внештат. специалист по гематологии Министерства здравоохранения Самарской области
Кулагин Александр Дмитриевич, Санкт-Петербург	Д.м.н., проф. каф. гематологии, трансфузиологии, трансплантологии ФПО, зам. глав. врача по гематологии, онкогематологии и ревматологии ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»
Птушкин Вадим Вадимович, Москва	Д.м.н., проф., проф. каф. онкологии, гематологии и лучевой терапии ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», зам. глав. врача ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина» по гематологии, гл. гематолог Департамента здравоохранения г. Москвы
Рехтина Ирина Германовна, Москва	Д.м.н., зав. отделением химиотерапии плазмноклеточных дискразий ФГБУ «НМИЦ гематологии»
Смирнова Анна Геннадьевна, Санкт-Петербург	К.м.н., зав. поликлиническим отделением НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой
Шатохин Юрий Васильевич, Ростов-на-Дону	Д.м.н., проф. зав. каф. гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС с курсом клинической лабораторной диагностики, генетики и лабораторной генетики, зав. гематологическим отделением ФГБОУ ВО РостГМУ, гл. внештат. гематолог ЮФО, СКФО

От имени Российского общества патологов

ФИО, город	Должность, место работы
Байков Вадим Валентинович, Санкт-Петербург	Д.м.н., проф. каф. патологической анатомии с патологоанатомическим отд-нием ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова», зав. лаб. патоморфологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, член профильной комиссии Минздрава России по специальности «Молекулярная медицина»
Сиповский Василий Георгиевич, Санкт-Петербург	К.м.н., зав. лаб. клинической иммунологии и морфологии НИИ нефрологии ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»
Столяревич Екатерина Сергеевна, Москва	Д.м.н., проф. каф. нефрологии ФПДО ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова», врач-патологоанатом ГБУЗ ГКБ №52
Тодоров Сергей Сергеевич, Ростов-на-Дону	Д.м.н., рук. морфологического отд. ФГБОУ ВО РостГМУ
Воробьева Ольга Алексеевна, Санкт-Петербург	К.м.н., врач-патологоанатом отд-ния нефропатологии и сложных морфологических исследований ООО «Национальный центр клинической морфологической диагностики», рук. направления патологии собственной и трансплантированной почки
Лебедев Кирилл Игоревич, Санкт-Петербург	Мл. науч. сотр. лаб. клинической иммунологии и морфологии НИИ нефрологии ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Leung N, Bridoux F, Hutchison CA, et al. Monoclonal gammopathy of renal significance: when MGUS is no longer undetermined or insignificant. *Blood*. 2012;120(22):4292-5. doi: 10.1182/blood-2012-07-445304
- Leung N, Bridoux F, Batuman V, et al. The evaluation of monoclonal gammopathy of renal significance: a consensus report of the International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group. *Nat Rev Nephrol*. 2019;15(1):45-59. doi: 10.1038/s41581-018-0077-4
- Козловская Л.В., Рамеев В.В., Когарко И.Н. и др. Поражения почек, ассоциированные с моноклональной гаммапатией неопределенного значения: клинические формы, механизмы развития, подходы к лечению. *Клин. медицина*. 2016;94(12):892-901 [Kozlovskaya LV, Rameev VV, Kogarko IN, et al. Renal lesions associated with monoclonal gammopathies of undetermined significance: clinical forms, mechanisms of development, approaches to treatment. *Klin. meditsina*. 2016;94(12):892-901 (In Russ.)]. doi: 10.18821/0023-2149-2016-94-12-892-901
- Храброва М.С., Добронравов В.А., Смирнов А.В. Поражения почек, ассоциированные с моноклональными гаммапатиями: одноцентровое исследование. *Нефрология*. 2018;22(6):38-46 [Khrabrova MS, Dobronravov VA, Smirnov AV. Kidney disease associated with monoclonal gammopathies: single-center study. *Nephrology*. 2018;22(6):38-46 (In Russ.)]. doi: 10.24884/1561-6274-2018-22-6-38-46
- Захарова Е.В., Столяревич Е.С. Особенности нефропатий при лимфолиферативных и плазмоклеточных заболеваниях (опыт одного центра). *Альманах клин. медицины*. 2014;30:3-11 [Zakharova EV, Stolyarevich ES. Kidney damage in lymphoproliferative and plasma cell disorders (one center experience). *Almanac of Clinical Medicine*. 2014;30:3-11 (In Russ.)]. doi: 10.18786/2072-0505-2014-30-3-11
- Zakharova EV, Stolyarevich ES. Renal consequences of Lymphoproliferative Disorders and Monoclonal Gammopathy. *Urol Nephrol Open Access*. 2015;2(4):47-55. doi: 10.15406/unoaj.2015.02.00047
- Zand L, Nasr SH, Gertz MA, et al. Clinical and prognostic differences among patients with light chain deposition disease, myeloma cast nephropathy and both. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(12):3357-64. doi: 10.3109/10428194.2015
- Lin J, Markowitz GS, Valeri AM, et al. Renal monoclonal immunoglobulin deposition disease: the disease spectrum. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(7):1482-92.
- Nasr SH, Valeri AM, Cornell LD, et al. Renal monoclonal immunoglobulin deposition disease: A report of 64 patients from a single institution. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7:231-9.
- Nasr SH, Valeri AM, Cornell LD, et al. Fibrillary glomerulonephritis: A report of 66 cases from a single institution. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6:775-84.
- Steiner N, Göbel G, Suchecki P, et al. Monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS) increases the risk for progression to multiple myeloma: an observational study of 2935 MGUS patients. *Oncotarget*. 2017;9(2):2344-56. doi: 10.18632/oncotarget.23412
- Kourelis TV, Nasr SH, Dispenzieri A, et al. Outcomes of patients with renal monoclonal immunoglobulin deposition disease. *Am J Hematol*. 2016;91(11):1123-8. doi: 10.1002/ajh.24528
- Cohen C, Royer B, Javaugue V, et al. Bortezomib produces high hematological response rates with prolonged renal survival in monoclonal immunoglobulin deposition disease. *Kidney Int*. 2015;88:1135-43.
- Ziogas DC, Kastiris E, Terpos E, et al. Hematologic and renal improvement of monoclonal immunoglobulin deposition disease after treatment with bortezomib-based regimens. *Leuk Lymphoma*. 2017;58(8):1832-9. doi: 10.1080/10428194.2016.1267349
- Gumber R, Cohen JB, Palmer MB, et al. A clone-directed approach may improve diagnosis and treatment of proliferative glomerulonephritis with monoclonal immunoglobulin deposits. *Kidney Int*. 2018;94(1):199-205. doi: 10.1016/j.kint.2018.02.020
- Менделеева Л.П., Вотякова О.М., Покровская О.С. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению множественной миеломы. *Гематология и трансфузиология*. 2016;61(1, Прил. 2):1-24 [Mendeleva LP, Votyakova OM, Pokrovskaya OS, et al. National clinical recommendations on diagnosis and treatment of multiple myeloma. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2016;61(1, Suppl. 2):1-24 (In Russ.)]. doi: 10.18821/0234-5730-2016-61-1

17. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. Под рук. И.В. Поддубной, В.Г. Савченко. 2016 г. [Russian clinical recommendations on diagnostic and treatment of lymphoproliferative disorders under the leadership of IV Poddubnaya, VG Savchenko. 2016. http://www.hematology.ru/onco-hematology/standarts/clinical_guidelines-draft.pdf (In Russ.)].
18. Dimopoulos MA, Sonneveld P, Leung N, et al. International Myeloma Working Group Recommendations for the Diagnosis and Management of Myeloma-Related Renal Impairment. *J Clin Oncol*. 2016;34(13):1544-57. doi: 10.1200/JCO.2015.65.0044
19. Клинические рекомендации по обследованию и лечению больных хроническим лимфолейкозом (2014). Коллектив авторов под рук. В.Г. Савченко, И.В. Поддубной [Clinical recommendations on investigation and treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia (2014). Group of authors under the leadership of VG Savchenko, IV Poddubnaya (In Russ.)]. <https://blood.ru/documents/clinical%20guidelines/26.%20klinicheskie-rekomendacii-2014-xll.pdf>
20. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90. doi: 10.1182/blood-2016-01-643569
21. Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases. *Am J Med*. 1978;64(5):814-26.
22. Vardi A, Dagklis A, Scarfò L, et al. Immunogenetics shows that not all MBL are equal: the larger the clone, the more similar to CLL. *Blood*. 2013;121(22):4521-8. doi: 10.1182/blood-2012-12-471698
23. Kyle RA, Benson J, Larson D, et al. IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering Waldenström's macroglobulinemia. *Clin Lymphoma Myeloma*. 2009;9(1):17-8. doi: 10.3816/CLM.2009.n.002
24. Rajkumar SV, Kyle RA, Buadi FK. Advances in the diagnosis, classification, risk stratification, and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance: implications for recategorizing disease entities in the presence of evolving scientific evidence. *Mayo Clin Proc*. 2010;85(10):945-8. doi: 10.4065/mcp.2010.0520
25. Merlini G, Stone MJ. Dangerous small B-cell clones. *Blood*. 2006;108(8):2520-30. doi: 10.1182/blood-2006-03-001164
26. Femand JP, Bridoux F, Dispenzieri A, et al. Monoclonal gammopathy of clinical significance: a novel concept with therapeutic implications. *Blood*. 2018;132(14):1478-85. doi: 10.1182/blood-2018-04-839480
27. Gertz MA. Waldenström macroglobulinemia: 2018 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2018;1-11. doi: 10.1002/ajh.25292
28. Fish R, Pinney J, Jain P, et al. The Incidence of major hemorrhagic complications after renal biopsies in patients with monoclonal gammopathies. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(11):1977-80. doi: 10.2215/CJN.00650110
29. Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, et al. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9731):2073-81
30. Смирнов А.В., Добронравов В.А., Каюков И.Г. Кардио-ренальный континуум: патогенетические основы превентивной нефрологии. *Нефрология*. 2005;9(3):7-15 [Smirnov AV, Dobronravov VA, Kayukov IG. Cardiorenal continuum, pathogenetical grounds of preventive nephrology. *Nephrology*. 2005;9(3):7-15 (In Russ.)]. doi: 10.24884/1561-6274-2005-9-3-7-15
31. Thomas B, Matsushita K, Abate KH, et al. Global Cardiovascular and Renal Outcomes of Reduced GFR. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(7):2167-79. doi: 10.1681/ASN.2016050562
32. Van der Velde M, Matsushita K, Coresh J, et al. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium: Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality. A collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. *Kidney Int*. 2011;79:1341-52.
33. Hui X, Matsushita K, Sang Y, et al. CKD and cardiovascular disease in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study: Interactions with age, sex, and race. *Am J Kidney Dis*. 2013;62:691-702.
34. Kyle RA, San-Miguel JF, Mateos MV, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2014;28(5):775-90. doi: 10.1016/j.hoc.2014.06.005
35. Buxbaum JN, Hurley ME, Chuba J, Spiro T. Amyloidosis of the AL type. Clinical, morphologic and biochemical aspects of the response to therapy with alkylating agents and prednisone. *Am J Med*. 1979;67(5):867-78.
36. Benson MD. Treatment of AL amyloidosis with melphalan, prednisone, and colchicine. *Arthritis Rheum*. 1986;29(5):683-7.
37. Vaxman I, Gertz M. Recent Advances in the Diagnosis, Risk Stratification, and Management of Systemic Light-Chain Amyloidosis. *Acta Haematol*. 2019;141(2):93-106.
38. Zakharova EV, Stolyarevich ES. Chemotherapy for renal AL amyloidosis: treatment results and outcomes in 49 patients from a single center. *Clin Pract*. 2016;13(1):11-8.
39. Femand JP, Bridoux F, Kyle RA, et al. How I treat monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS). *Blood*. 2013;122(22):3583-90. doi: 10.1182/blood-2013-05-495929
40. Heilman RL, Velosa JA, Holley KE, et al. Long-term follow-up and response to chemotherapy in patients with light-chain deposition disease. *Am J Kidney Dis*. 1992;20(1):34-41.
41. Cohen C, Royer B, Javaugue V, et al. Bortezomib produces high hematological response rates with prolonged renal survival in monoclonal immunoglobulin deposition disease. *Kidney Int*. 2015;88:1135-43.
42. Gavriatopoulou M, Musto P, Caers J, et al. European myeloma network recommendations on diagnosis and management of patients with rare plasma cell dyscrasias. *Leukemia*. 2018;32(9):1883-98. doi: 10.1038/s41375-018-0209-7
43. Ziogas DC, Kastiris E, Terpos E, et al. Hematologic and renal improvement of monoclonal immunoglobulin deposition disease after treatment with bortezomib-based regimens. *Leuk Lymphoma*. 2017;58(8):1832-9. doi: 10.1080/10428194.2016.1267349
44. Nasr SH, Markowitz GS, Stokes MB, et al. Proliferative glomerulonephritis with monoclonal IgG deposits: a distinct entity mimicking immune-complex glomerulonephritis. *Kidney Int*. 2004;65(1):85-96.
45. Nasr SH, Snyder RW, Bhagat G, Markowitz GS. Chronic lymphocytic leukemia and cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int*. 2007;71(2):93.
46. Herrera GA, Joseph L, Gu X, et al. Renal pathologic spectrum in an autopsy series of patients with plasma cell dyscrasia. *Arch Pathol Lab Med*. 2004;128(8):875-9.
47. Ciocchini M, Arbelbide J, Musso CG. Monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS): the characteristics and significance of a new meta-entity. *Int Urol Nephrol*. 2017;49(12):2171-5. doi: 10.1007/s11255-017-1594-y
48. Kanzaki G, Okabayashi Y, Nagahama K, et al. Monoclonal Immunoglobulin Deposition Disease and Related Diseases. *J Nippon Med Sch*. 2019;86(1):2-9. doi: 10.1272/jnms.JNMS.2019_86_1
49. Caravaca-Fontán F, Gutiérrez E, Delgado Lillo R, Praga M. Monoclonal gammopathies of renal significance. *Nefrologia*. 2017;37(5):465-77. doi: 10.1016/j.nefro.2017.03.012
50. Mehtat Ünlü Ş, Özsan H, Sarioğlu S, et al. The Scope of Kidney Affection in Monoclonal Gammopathies at All Levels of Clinical Significance. *Turk J Haematol*. 2017;34(4):282-8. doi: 10.4274/tjh.2017.0197
51. Sethi S, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy-associated proliferative glomerulonephritis. *Mayo Clin Proc*. 2013;88(11):1284-93. doi: 10.1016/j.mayocp.2013.08.002
52. Bridoux F, Leung N, Hutchison CA, et al. Diagnosis of monoclonal gammopathy of renal significance. *Kidney Int*. 2015;87(4):698-711. doi: 10.1038/ki.2014.408
53. Available from: <https://icd.who.int/browse11/l-m/en/#/http%3a%2f%2fid.who.int%2fid%2fentity%2f1815409370>
54. Sethi S, Rajkumar SV, D'Agati VD. The Complexity and Heterogeneity of Monoclonal Immunoglobulin-Associated Renal Diseases. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29(7):1810-23. doi: 10.1681/ASN.2017121319
55. Larsen CP, Messias NC, Walker PD, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis with masked monotypic immunoglobulin deposits. *Kidney Int*. 2015;88(4):867-73. doi: 10.1038/ki.2015.195
56. Nasr SH, Fidler ME, Said SM. Paraffin Immunofluorescence: A Valuable Ancillary Technique in Renal Pathology. *Kidney Int Rep*. 2018;3(6):1260-6. doi: 10.1016/j.ekir.2018.07.008
57. Messias NC, Walker PD, Larsen CP, et al. Paraffin immunofluorescence in the renal pathology laboratory: more than a salvage technique. *Mod Pathol*. 2015;28(6):854-60. doi: 10.1038/modpathol.2015.1

58. Alexander MP, Dasari S, Vrana JA, et al. Congophilic Fibrillary Glomerulonephritis: A Case Series. *Am J Kidney Dis.* 2018;72(3):325-36. doi: 10.1053/j.ajkd.2018.03.017
59. Nasr SH, Vrana JA, Dasari S, et al. DNAJB9 Is a Specific Immunohistochemical Marker for Fibrillary Glomerulonephritis. *Kidney Int Rep.* 2017;3(1):56-64. doi: 10.1016/j.ekir.2017.07.017
60. Herrera GA, Sanders PW, Reddy BV. Ultrastructural immunolabeling: a unique diagnostic tool in monoclonal light chain-related renal diseases. *Ultrastruct Pathol.* 1994;18:401-16.
61. Gu X, Herrera GA. Light-chain-mediated acute tubular interstitial nephritis: a poorly recognized pattern of renal disease in patients with plasma cell dyscrasia. *Arch Pathol Lab Med.* 2006;130(2):165-9.
62. Royal V, Quint P, Leblanc M, et al. IgD heavy-chain deposition disease: detection by laser microdissection and mass spectrometry. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(4):784-90. doi: 10.1681/ASN.2014050481
63. Leung N, Barnidge DR, Hutchison CA, et al. Laboratory testing in monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS). *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6):929-37. doi: 10.1515/ccm-2015-0994
64. Rosner MH, Edeani A, Yanagita M, et al. Paraprotein-related kidney disease: diagnosing and treating monoclonal gammopathy of renal significance. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016;11(12):2280-7. doi: 10.2215/CJN.02920316
65. Gertz MA. Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2016 update on diagnosis, prognosis, and treatment. *Am J Hematol.* 2016;91(9):947-56. doi: 10.1002/ajh.24433
66. Pasquali S, Iannuzzella F, Corrandini M, et al. A novel option for reducing free light chains in myeloma kidney: Supra-hemodiafiltration with endogenous reinfusion (HFR). *J Nephrol.* 2015;28(2):251-4.
67. Pendón-Ruiz de Mier MV, Alvarez-Lara MA, et al. Effectiveness of haemodiafiltration with ultrafiltrate regeneration in the reduction of light chains in multiple myeloma with renal failure. *Nefrologia.* 2013;33(6):788-96.
68. Mene P, Giammarioli E, Fofi C, et al. Serum free light chains removal by HFR hemodiafiltration in patients with multiple myeloma and acute kidney injury: a case series. *Kidney Blood Press Res.* 2018;43(4):1263-72.
69. Sayed RH, Wechalekar AD, Gilbertson JA, et al. Natural history and outcome of light chain deposition disease. *Blood.* 2015;126(26):2805-10. doi: 10.1182/blood-2015-07-658872
70. Decourt A, Gondouin B, Delaroziere JC, et al. Trends in survival and renal recovery in patients with multiple myeloma or light-chain amyloidosis on chronic dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016;11(3):431-41. doi: 10.2215/CJN.06290615
71. Abudayyeh AA, Lahoti A, Salahudeen AK, et al. Onconephrology: the need and the emergence of a subspecialty in nephrology. *Kidney Int.* 2014;85(5):1002-4. doi: 10.1038/ki.2014.29
72. Cohen EP, Krzesinski JM, Launay-Vacher V, Sprangers B. Onconephrology: Core Curriculum 2015. *Am J Kidney Dis.* 2015;66(5):869-83. doi: 10.1053/j.ajkd.2015.04.042
73. Cosmai L, Porta C, Perazella MA, et al. Opening an onconephrology clinic: recommendations and basic requirements. *Nephrol Dial Transplant.* 2018;33(9):1503-10. doi: 10.1093/ndt/gfy188
74. Capasso A, Benigni A, Capitanio U, et al. Summary of the International Conference on Onco-Nephrology: an emerging field in medicine. *Kidney Int.* 2019. doi: 10.1016/j.kint.2019.04.043

Поступила 03.03.2020

Применение мультипотентных мезенхимных стромальных клеток для лечения острой реакции «трансплантат против хозяина»

Л.А. Кузьмина, Н.А. Петинати, В.А. Васильева, М.В. Довыденко, М.Ю. Дроков, Ю.О. Давыдова, Н.М. Капранов, Н.В. Сац, Ю.А. Чабаяева, С.М. Куликов, Т.В. Гапонова, Н.И. Дризе, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель. Определение эффективности введения мезенхимных стромальных клеток (МСК) в качестве терапии 2–3-й линий при острой реакции «трансплантат против хозяина» (оРТПХ), резистентной к терапии глюкокортикостероидами.

Материалы и методы. В исследование включены 35 больных, которым с целью терапии оРТПХ, резистентной к лечению, введены МСК, полученные из костного мозга здоровых доноров. Проанализированы клинические показатели пациентов, культуральные характеристики МСК, профиль экспрессии различных генов, в том числе участвующих в иммуномодуляции, экспрессия поверхностных маркеров, источник МСК, частота и количество введений МСК.

Результаты. Ответ на терапию достигнут в 74% случаев, полный ответ – у 13 (37%) пациентов, частичный ответ/клиническое улучшение также у 13 (37%). У 9 пациентов лечение оказалось неэффективным. Выявить группу пациентов, у которых можно прогнозировать хороший ответ на терапию с использованием МСК, не удалось. Обнаружены отличия в эффективных для лечения оРТПХ образцов МСК от неэффективных. В первых отмечены снижение суммарной клеточной продукции МСК, повышение экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости и PDL-1.

Заключение. Эти данные позволяют выбирать необходимые образцы для лечения оРТПХ, что может улучшить клинические результаты. Терапия оРТПХ с помощью МСК показала сопоставимую эффективность по сравнению с другими подходами лечения. Учитывая низкий процент осложнений и отсутствие значимых негативных последствий, терапия МСК представляется одним из оптимальных подходов к лечению резистентных форм оРТПХ.

Ключевые слова: трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, реакция «трансплантат против хозяина», мультипотентные мезенхимные стромальные клетки.

Для цитирования: Кузьмина Л.А., Петинати Н.А., Васильева В.А. и др. Применение мультипотентных мезенхимных стромальных клеток для лечения острой реакции «трансплантат против хозяина». *Терапевтический архив.* 2020; 92 (7): 23–30. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000757

Multipotent mesenchymal stromal cells application for acute graft versus host disease treatment

L.A. Kuzmina, N.A. Petinati, V.A. Vasilieva, M.V. Dovydenko, M.Yu. Drovkov, Yu.O. Davydova, N.M. Kapranov, N.V. Sats, Yu.A. Chabaeva, S.M. Kulikov, T.V. Gaponova, N.I. Drize, E.N. Parovichnikova, V.G. Savchenko

National Research Center for Hematology, Moscow, Russia

Aim. Analysis of the effectiveness of the MSCs administration as the second- or third-line therapy of acute GVHD (aGVHD) resistant to glucocorticosteroid treatment.

Materials and methods. The study included 35 patients who received MSCs obtained from the bone marrow of healthy donors as a treatment of steroid-resistant aGVHD. The clinical parameters of patients, MSCs' cultural characteristics, the MSC expression profile for various genes including those involved in immunomodulation, expression of cells' surface markers, the source of MSCs, as well as the frequency and number of MSC administrations were analyzed.

Results. Response to therapy was achieved in 74% of cases, a complete response was reached in 13 (37%) patients, partial response/clinical improvement was demonstrated in 13 (37%). This treatment was ineffective in 9 patients. The prediction of a group of patients with good response to MSC therapy turned to be impossible. The differences between the effective and ineffective for the GVHD treatment MSCs samples were found. The effective ones were characterized with a decreased total MSCs production and an increase in the main histocompatibility complex and PDL-1 antigens expression.

Conclusion. These data allow to select optimal samples for aGVHD treatment that can improve clinical results. aGVHD treatment with MSCs has shown efficacy comparable to other treatment approaches. Given the low percentage of complications and the absence of significant adverse effects, MSC therapy seems to be one of the optimal approaches to the treatment of resistant forms of GVHD.

Keywords: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, graft versus host disease, multipotent mesenchymal stromal cells.

For citation: Kuzmina L.A., Petinati N.A., Vasilieva V.A., et al. Multipotent mesenchymal stromal cells application for acute graft versus host disease treatment. *Therapeutic Archive.* 2020; 92 (7): 23–30. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000757

Алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток
ИЛ – интерлейкин
кДНК – кодирующая дезоксирибонуклеиновая кислота
КМ – костный мозг
КОЕф – колониеобразующие единицы фибробластов
КУ – клиническое улучшение
мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
МСК – мезенхимные стромальные клетки

ОВ – общая выживаемость
оРТПХ – острая реакция «трансплантат против хозяина»
ПО – полный ответ
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»
хРТПХ – хроническая реакция «трансплантат против хозяина»
ЧО – частичный ответ
IDO (indoleamine-2,3-dioxygenase) – индолеамин-2,3-диоксеназа

Введение

Несмотря на появление большого числа новых эффективных препаратов для лечения гемобластозов, трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) остается единственным методом излечения для многих пациентов с онкогематологическими и другими заболеваниями. Однако алло-ТГСК связана с развитием тяжелых осложнений, одно из ведущих мест среди которых занимают острая (ОРТПХ) и хроническая реакция «трансплантат против хозяина» (хрРТПХ) [1]. При развитии этого осложнения увеличивается летальность после трансплантации и может существенно снижаться качество жизни.

Реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) – это системное заболевание, при котором лимфоциты донора распознают антигены реципиента как чужеродные. Это приводит к иммунному ответу с участием донорских активированных Т-клеток, которые атакуют клетки хозяина и могут вызвать тяжелые полиорганные повреждения [2]. В патогенезе хрРТПХ наряду с Т-клетками существенную роль играют также В-клетки [3]. Для фармакологической профилактики РТПХ у большинства пациентов в настоящее время используют ингибиторы кальциневрина (циклоsporин А, такролимус), метотрексат [2], микофенолата мофетил [4, 5]. Несмотря на комбинированную профилактику, в 30–50% случаев после алло-ТГСК развивается ОРТПХ [6] и в 30–70% – хрРТПХ. В качестве 1-й линии терапии ОРТПХ используют высокие дозы метилпреднизолона [7, 8], в большинстве случаев с ингибиторами кальциневрина.

Примерно у 1/2 пациентов отмечается положительный ответ на лечение глюкокортикостероидами [7]. В ряде случаев развивается рефрактерность к метилпреднизолону, которая определяется либо как отсутствие какого-то ответа или прогрессирование симптомов после 3–7 дней системной терапии, а также отсутствие полного ответа (ПО) через 14 дней лечения. При констатации резистентности к иммуносупрессивной терапии долгосрочный прогноз у пациентов крайне неблагоприятный, общая выживаемость (ОВ) в течение 1 года составляет менее 30%. Летальность обусловлена проявлениями РТПХ, а также последствиями агрессивной иммуносупрессивной терапии, такими как реактивация вирусных, возникновение жизнеугрожающих бактериальных и грибковых инфекций, развитием рецидива основного заболевания [9, 10]. Стандартного подхода к терапии 2-й линии не существует, так как не доказано преимущество какого-либо метода терапии перед другими. Используют: микофенолат мофетил, сиролимус, такролимус, эстрокорпоральный фотоферез, ингибиторы JAK, ингибиторы протеасом, моноклональные антитела, анти тимоцитарный глобулин и мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) [11, 12].

В 2004 г. К. Le Blanc и соавт. [13] описали полный регресс проявлений тяжелой рефрактерной РТПХ кишечника и печени 4-й степени у 9-летнего мальчика после внутривенного введения МСК. С этого момента проведено немало исследований по изучению терапевтического подхода лечения РТПХ на основе МСК [14, 15].

Мультипотентные МСК – это прилипающие к пластику фибробластоподобные клетки, способные дифференцироваться в остеогенном, хондрогенном, миогенном и адипогенном направлениях [16, 17]. МСК не экспрессируют маркеры гемопоэтических клеток, но экспрессируют CD90, CD73, CD105 [18, 19]. В качестве источников мультипотентных МСК могут использоваться КМ, жировая ткань, плацента, пуповинная кровь, пульпа зуба [20]. В дополнение к их способности к дифференцировке в различные клеточные линии МСК обладают иммуносупрессивными свойствами [18, 19], секретируя большое число растворимых факторов, таких как индолеамин-2,3-диоксеназа (IDO), простагландин-2, интерлейкин (ИЛ)-10, трансформирующий фактор роста β , оксид азота, HLA-G5, белок-индуцибельный фактор-индуцируемый опухолевым геном 6 (TSG-6), МСК способны ингибировать активацию комплемента, подавлять пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, NK-клеток, менять соотношение между различными субпопуляциями Т-клеток, индуцировать пролиферацию регуляторных Т-клеток. Вследствие этого МСК используют для лечения различных заболеваний: болезнь Крона, болезнь Альцгеймера, инфаркт миокарда, сахарный диабет 1-го типа [11, 21–23].

Мультипотентные МСК применяют в том числе для лечения пациентов с ОРТПХ и хрРТПХ, резистентной к терапии глюкокортикостероидами. Продемонстрировано, что МСК улучшают ОВ пациентов, у которых достигнут ПО или частичный ответ (ЧО) [24, 25]. Несмотря на эти обнадеживающие результаты, по-прежнему существует необходимость в определении факторов, которые могут влиять на эффективность лечения при использовании МСК.

Сведения об авторах:

Петинати Наталья Арнольдовна – ст. науч. сотр. лаб. физиологии кроветворения. ORCID: 0000-0001-6591-3183

Васильева Вера Алексеевна – зав. отд-нием иммунохимиотерапии с дневным стационаром для больных после трансплантации костного мозга. ORCID: 0000-0003-0904-7385

Довыденко Мария Вячеславовна – врач-гематолог отд-ния интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга. ORCID: 0000-0002-6082-0110

Дроков Михаил Юрьевич – рук. сектора по изучению иммунных воздействий и осложнений после трансплантации костного мозга. ORCID: 0000-0001-9431-8316

Давыдова Юлия Олеговна – врач клинической лабораторной диагностики лаб. иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга. ORCID: 0000-0001-5932-0285

Капранов Николай Михайлович – медицинский физик лаб. иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга. ORCID: 0000-0002-6512-910X

Сац Наталья Владимировна – ст. науч. сотр. лаб. физиологии кроветворения. ORCID: 0000-0002-1559-9381

Чабаева Юлия Александровна – сотр. информационно-аналитического отд. ORCID: 0000-0001-8044-598X

Куликов Сергей Михайлович – зав. информационно-аналитическим отд. ORCID: 0000-0002-6288-7570

Гапонова Татьяна Владимировна – зам. ген. дир. по трансфузиологии, зав. отд. процессинга клеток крови и криоконсервирования. ORCID: 0000-0002-9684-5045

Дризе Нина Иосифовна – зав. лаб. физиологии кроветворения. ORCID: 0000-0002-7150-0403

Паровичникова Елена Николаевна – зав. отд. химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга. ORCID: 0000-0001-6177-3566

Савченко Валерий Григорьевич – акад. РАН, д.м.н., проф., ген. дир. ORCID: 0000-0001-8188-5557

Контактная информация:

Кузьмина Лариса Анатольевна – к.м.н., зав. отд-нием интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами. Тел.: +7(916)148-71-31; e-mail: kuzlara@rambler.ru; ORCID: 0000-0001-6201-6276

Таблица 1. Характеристика пациентов в зависимости от ответа на лечение

		ПО (n=13)	ЧО/КУ (n=13)	Нет ответа (n=9)
Мужчины/женщины		3/10	6/7	7/2
Возраст, лет		Медиана 42 (19–60)	Медиана 37 (19–55)	Медиана 37 (19–55)
Диагнозы	Острый миелоидный лейкоз	11	5	2
	Острый лимфобластный лейкоз	2	4	2
	Миелодиспластический синдром		2	3
	Хронический миелолейкоз		2	1
	Грибовидный микоз			1
Донор гемопоэтических стволовых клеток	Родственный совместимый по антигенам гистосовместимости донор	7	6	4
	Неродственный совместимый по антигенам гистосовместимости донор	4	6	3
	Неродственный частично совместимый по антигенам гистосовместимости донор	2	1	2
Источник трансплантата	КМ	9	8	7
	Стволовые клетки периферической крови	4	5	2
Срок возникновения оРТПХ, дни		Медиана 62 (8–162)	Медиана 87 (15–150)	Медиана 58 (37–90)
Поздние формы оРТПХ (n=8)	Трансфузия лимфоцитов донора	3		
	Отмена иммуносупрессии		4	1
Поражение органов				
Кожа (n=3)		1	2	
Печень (n=1)				1
Кишечник (n=13)		5	4	4
Кожа и печень (n=2)		2		
Кожа и кишечник (n=10)		3	5	2
Печень и кишечник (n=2)			1	1
Кожа, печень и кишечник (n=4)		2	1	1
Степень поражения	2-я (n=13)	5	5	3
	3-я (n=16)	6	7	3
	4-я (n=6)	2	1	3
Линия терапии	2-я	10	10	7
	3-я	2	3	2
	4-я	1		
МСК	Донор собственный	7	8	6
	Сторонний донор	6	5	3
Срок 1 введения МСК от диагностики оРТПХ, дни		Медиана 16 (7–62)	Медиана 15 (8–61)	Медиана 12 (7–31)
Количество введений МСК	1	5	3	1
	2	8	6	5
	3	6	4	1
	4	1		1
	5	1		1
Использование следующих линий иммуносупрессивной терапии, n (%)		4 (31)	4 (31)	9 (100)

В этой работе мы представляем ретроспективный анализ лечения пациентов с оРТПХ, которая резистентна к терапии глюкокортикостероидами, с помощью МСК, выделенных из КМ доноров гемопоэтических клеток.

Материалы и методы

В исследование включены 35 пациентов (16 мужчин, 19 женщин), которым выполнена алло-ТГСК. У большин-

ства лиц алло-ТГСК произведена в качестве этапа программной терапии острого миелоидного лейкоза (18 пациентов) или острого лимфобластного лейкоза (8 больных). В других случаях показание к алло-ТГСК – миелодиспластический синдром – у 5 пациентов, хронический миелолейкоз – у 3, грибовидный микоз – у 1. Медиана возраста больных при проведении алло-ТГСК составила 38 лет (19–60 лет). В 17 случаях алло-ТГСК выполнена от родственного полностью совместимого донора, в 13 – от неродственного пол-

ностью совместимого донора и в 5 – от неродственного частично совместимого донора. В качестве источника трансплантата у 24 больных использовано КМ, у 11 пациентов – периферические стволовые клетки. Срок возникновения оРТПХ составил 8–162 дня после алло-ТГСК, медиана – 64 дня. У 3 пациентов РТПХ развилась после трансфузии лимфоцитов донора, у 5 – во время отмены иммуносупрессивной терапии. Изолированное поражение кожи выявлено у 3 человек, печени – у 1, кишечника – у 13, кожи и печени – у 2, кожи и кишечника – у 10, печени и кишечника – у 2, у 4 больных отмечено вовлечение 3 органов-мишеней (кожи, печени и кишечника). У большинства пациентов (62,8%) выявлена 3–4-я степень оРТПХ: у 16 – 3-я, у 6 – 4-я. У 13 пациентов диагностирована оРТПХ 2-й степени. Степень оРТПХ определена в соответствии с критериями Н. Glucksberg и соавт., 1974 [26].

В качестве 1-й линии терапии назначен метилпреднизолон в дозе не менее 1 мг/кг в сутки (в 2 случаях проводилась терапия ингибиторами кальциневрина в связи с развившимися осложнениями и высоким риском назначения глюкокортикостероидов). оРТПХ считали резистентной к терапии, если не достигнут ПО через 14 дней или при признаках прогрессирования оРТПХ во время лечения, а также при отсутствии какого-либо ответа через 5–7 дней лечения.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом. Информированное согласие на применение МСК получено от всех пациентов. С целью терапии оРТПХ, резистентной к лечению, всем пациентам введены МСК, полученные из КМ здоровых доноров – как собственных доноров гемопоэтических стволовых клеток, так и других (сторонних) доноров.

С целью терапии оРТПХ МСК вводили в дозировке 1×10^6 /кг массы тела больного. У 8 лиц выполнено 1 введение МСК, у 17 – 2, у 8 – 3, у 1 – 4 и у 1 – 5 введений. Интервал между введениями составил 1 нед. В качестве терапии введены МСК, полученные из КМ собственного донора (донора гемопоэтических клеток), 21 пациенту, 14 – МСК из КМ стороннего донора. Медиана срока введения МСК от диагностики РТПХ составила 15,5 дня (7–62). У 27 пациентов МСК использованы в качестве терапии резистентной формы РТПХ как 2-я линия терапии, у 7 – 3-я, у 1 – 4-я (табл. 1).

Ответ на лечение МСК оценивали через 28 дней после их введения. Ответ на введение МСК определен как ПО в случае полного исчезновения всех признаков оРТПХ или ЧО – при уменьшении симптомов поражения в органах-мишенях более чем на 50%, клиническое улучшение (КУ) – менее чем на 50%. Стабильное или прогрессирующее течение РТПХ классифицировано как отсутствие ответа.

МСК выделяли из КМ, полученного во время эксфузии у доноров после подписания ими информированного согласия. Для получения ядродержащих клеток КМ смешивали с одинаковым объемом среды α MEM (ICN), который содержал 0,2% метилцеллюлозы (1500 cP, Sigma-Aldrich). Большинство эритроцитов и гранулоцитов оседало через 40 мин, в то время как мононуклеарные клетки оставались в суспензии. Далее клеточный осадок ресуспендировали в стандартной среде для культивирования, которая состояла из среды α MEM с 4% плазмы, обогащенной тромбоцитами, 100 ЕД/мл пенициллина («Ферейн», Россия), 2 мМ L-глутамин (ICN) и 50 мкг/мл стрептомицина («Ферейн», Россия). Клетки культивировали по $27\text{--}30 \times 10^6$ клеток на флакон T175 см² (Corning-Costar). После формирования конфлюэнтного монослоя клетки отмывались 0,02% ЭДТА (ICN) в физиологическом растворе (Sigma-Aldrich), а затем обрабатывались трипсином (ICN). Клетки рассаживали по 4×10^3 клеток на 1 см² площади

флакона. Культуры держали в условиях гипоксии при 37°C в атмосфере с 5% CO₂ и 5% O₂. Для лабораторных исследований МСК культивировали с 10% эмбриональной телячьей сывороткой (Hyclone, США).

Для анализа колониеобразующих единиц фибробластов (КОЕф) ядродержащие клетки полученных образцов КМ культивировали по 10^6 и 5×10^5 на флакон с площадью дна 25 см² в среде альфа-МЕМ с 20% эмбриональной телячьей сывороткой, 2 мМ L-глутамин (ICN, США), 100 ед/мл пенициллина («Ферейн», Россия), 50 мкг/мл стрептомицина («Ферейн», Россия) в течение 14 дней. Подсчет колоний производили под бинокулярной лупой (Opton, Германия) после окрашивания в 1% кристаллвиолете на 20% метаноле.

Определение антигенов комплекса гистосовместимости на МСК выполняли методом проточной цитометрии. После снятия МСК со дна флакона их дважды отмывали раствором CellWash (BD Biosciences, США) и после этого 2×10^4 клеток инкубировали 20 мин в темноте с моноклональными антителами. Анализ проводили с использованием проточного цитометра FACSCanto II (BD Biosciences, США), данные анализировали с помощью программы FACSDiva (BD Biosciences, США). Популяцию МСК определяли сначала по параметрам прямого и бокового светорассеяния, далее выделяли клетки, экспрессирующие CD90. В этой популяции клеток оценивали средний уровень флуоресценции (MFI) по каналам PE (CD90, CD146, CD73), APC (HLA-DR, CD178, CD54, CD86), FITC (HLA-ABC, CD80, CD105, CD274).

Определение уровня экспрессии генов в МСК осуществляли на первом пассаже методом обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией (ПЦР) в режиме реального времени (модификация Taq-Man) на приборе Abiprism 7500 (Applied Biosystems). РНК выделяли, используя стандартный протокол с небольшими модификациями. Обратную транскриптазу (M-MLV, Promega) применяли для построения первых цепей ДНК после гибридизации мРНК со смесью поли-Т-праймеров и случайных гексамеров. Нуклеотидные последовательности специфичных к соответствующим генам праймеров и зондов приведены ранее в статье [27]. Для анализа полученных данных использовали метод $\Delta\Delta C_t$ [28]. После проведения ПЦР вычисляли средние значения порогового цикла C_t из 3 проб для каждого из образцов. Вычисляли разницу средних значений порогового цикла для исследуемого гена между опытным и контрольным образцом (в качестве контрольного образца взята смесь кДНК из проб от 8 доноров). Ненормированную разницу экспрессии гена вычисляли по формуле:

$$D = 2 - \Delta C_t \quad (1),$$

где D – ненормированная разность в экспрессии исследуемого гена, а ΔC_t – разность средних значений порогового цикла опытного и контрольного образцов. Для нормирования количества кДНК в исходных пробах использовали гены домашнего хозяйства, кодирующие *GAPDH* (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) и *BACT* (β -актин). Для каждого из этих генов проводили ПЦР в режиме реального времени с соответствующими праймерами и зондом. Вычисляли показатель D по каждому из этих генов по формуле (1). Показатель D в случае гена домашнего хозяйства отражает разницу в количестве исходного материала (тотальной РНК) в разных пробах. Суммарный фактор нормализации вычисляли как среднее геометрическое из факторов нормализации по отдельным генам домашнего хозяйства. Нормированную разницу экспрессии интересующих нас генов вычисляли по формуле (2):

$$D_n = \frac{D}{NF} \quad (2),$$

Таблица 2. Результаты терапии с использованием МСК в зависимости от ответа на лечение

	ПО (n=13)	ЧО/КУ (n=13)	Нет ответа (n=9)
Живы на момент анализа	6/13 (46%)	6/13 (46%)	1/9 (11%)
Причины смерти			
Рецидив	4	2	–
РТПХ	1	2	6
Инфекционные осложнения	2	3	2

Таблица 3. Характеристика МСК в зависимости от клинического ответа

	ПО (n=13)	ЧО/КУ (n=13)	Нет ответа (n=9)
Возраст донора, лет	Медиана 40 (16–62)	Медиана 34 (13–61)	Медиана 38 (27–55)
КОЕф	18,8±6,5	37,7±14,3	6,1±1,4
Суммарная клеточная продукция МСК	7,5±1,5	11,4±2,5	14,5±6,5
Время до P0	13,5±0,8	12,7±0,4	14,4±0,9

где Dn – нормированная разница экспрессии гена, D – ненормированная разница экспрессии гена, NF – суммарный фактор нормализации по 2 генам домашнего хозяйства.

ОВ всех больных, включенных в исследование, рассчитывали от 1-го дня введения МСК; за событие принимали смерть от любых причин. Для сравнения показателей ОВ больных, у кого отмечался или не отмечался положительный ответ на лечение, за точку отсчета приняли максимальное время до достижения эффекта от введения МСК (+24-й день), поскольку это позволяет избежать отрицательной селекции в группе лиц, у которых МСК оказались неэффективны (смерти до возможного достижения ответа).

Статистический анализ выполнен с помощью программы GraphPad Prism version 8.1 (GraphPad Software Inc.). Применяли непарный Т-критерий Стьюдента и событийный анализ Каплана–Майера. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Ответ на лечение с использованием МСК достигнут у 26 (74%) больных, при этом ПО отмечался у 13 (37%) пациентов, ЧО/КУ – также у 13. У 9 пациентов не наблюдалось положительного эффекта после начала лечения МСК.

Отмечено, что в группе больных, у которых достигнут положительный ответ на лечение, медиана времени от начала терапии с использованием МСК до улучшения состояния пациента составила – 7 дней (2–24). У 17 пациентов после терапии МСК использованы следующие линии иммуносупрессивной терапии, которая назначалась при отсутствии ответа, прогрессии или рецидива РТПХ.

Не выявлено тяжелых осложнений при терапии МСК, и только у одного пациента отмечался небольшой озноб при повторном введении.

При анализе результатов лечения не выявлено различий в возрасте пациентов, степени оРТПХ, сроков ее возникновения, вовлечения органов-мишеней, совместимости с донором гемопоэтических клеток и источником трансплантата (КМ или стволовые клетки периферической крови), интервала от времени диагностики РТПХ до начала лечения с использованием МСК среди пациентов, у которых достигнут ПО или ЧО/КУ или нет ответа на лечение. Не выявлено зависимости частоты ответов на терапию от возраста донора МСК и количества введений, а также в качестве какой линии терапии использовали МСК, хотя у большинства пациентов во всех группах МСК применяли в качестве 2-й линии терапии. При этом выявлено, что среди ответивших на терапию

МСК достоверно больше женщин, чем мужчин (по критерию $\chi^2 p=0,012$).

В нашем исследовании вероятность ОВ пациентов после начала терапии МСК составила к 6 мес – 63%, к 24 мес – 48%, к 60 мес – 29% (рис. 1, см. на цветной вклейке).

Для оценки скорости достижения ответа и медианы времени его достижения проанализирована вероятность достижения ответа. На рис. 2 (см. на цветной вклейке) видно, что среди пациентов, у которых достигнут ответ на терапию, максимальный срок достижения ответа составил 24 дня после введения МСК, а медиана времени до достижения ответа – 7 дней. При этом вероятность получения положительного эффекта после начала терапии МСК составила 75%.

Для того, чтобы сравнить показатели ОВ у больных, у которых достигнут или не достигнут ответ на лечение МСК, за точку 0 принят 24-й день после введения МСК (максимальный срок достижения ПО/ЧО/КУ).

ОВ закономерно выше в группе пациентов с ПО и ЧО/КУ, чем у пациентов, у которых нет ответа на терапию (рис. 3, см. на цветной вклейке). Также видно, что у большинства пациентов, у которых терапия МСК неэффективна, ОВ крайне низка, так как не наблюдалось ответа и на последующие линии терапии.

У 6 пациентов в группе ПО или ЧО на лечение в дальнейшем развились рецидивы заболевания, а также тяжелые инфекционные осложнения, в то время как рецидивы РТПХ, приведшие к летальному исходу, отмечались реже. У большинства пациентов, у которых не получено ПО или ЧО при лечении МСК (8 из 9), не зафиксировано ответа на все последующие линии терапии. Они погибли в результате прогрессии РТПХ и инфекционных осложнений (табл. 2).

Одной из целей нашего исследования стала попытка выявить характеристики МСК, влияющие на их эффективность. Анализ приведен в табл. 3.

С целью терапии РТПХ пациентам вводили как МСК, полученные из КМ собственного донора гемопоэтических клеток, так и МСК, полученные из КМ стороннего донора. Анализ не продемонстрировал влияния источника МСК на эффективность терапии. Не выявлено достоверных отличий в возрасте донора, из КМ которого получены МСК, концентрации МСК в КМ (на которую указывает время до P0) и суммарной клеточной продукции МСК. Однако видна тенденция к повышению суммарной клеточной продукции МСК со снижением клинической эффективности. Суммарная клеточная продукция МСК за 4 пассажа несколько выше, хотя и недостоверно, в тех МСК, введение которых оказалось неэффективным ($7,6 \pm 1,5 \times 10^6$ против $14,6 \pm 6,5 \times 10^6$; $p=0,37$).

Таблица 4. Медиана относительного уровня экспрессии генов, важных для иммуномодуляции, в МСК в зависимости от их клинического эффекта

Ген	МСК		Значение <i>p</i>
	Эффективные	Неэффективные	
<i>IL6</i>	2,4	5,5	0,07
<i>IDO1</i>	0,004	8,7	0,2
<i>PDGFRa</i>	0,8	2	0,32
<i>IL1BR1</i>	1,4	2,2	0,38
<i>FGF2</i>	3,4	9,1	0,18
<i>LIF</i>	1	2,7	0,24
<i>ICAM1</i>	0,2	0,6	0,4
<i>VEGF</i>	1,6	0,2	0,005

Таблица 5. Средний уровень флуоресценции поверхностных маркеров МСК в зависимости от их клинического эффекта

Маркер	Средний уровень флуоресценции МСК		Значение <i>p</i>
	Эффективные	Неэффективные	
HLA-ABC	14549±1164	10115±1226	0,03
HLA-DR	420±74	259±122	0,31
CD90	79473±5946	54338±7646	0,03
CD274 (PDL-1)	92±34	0–2	0,02

Выявлено достоверное увеличение концентрации КОЕф в КМ доноров, МСК которых эффективны ($27,1 \pm 7,5/10^6$ ядросодержащих клеток КМ против $6,1 \pm 1,4$; $p=0,01$).

При анализе относительного уровня экспрессии генов иммуномодулирующих факторов достоверных различий не выявлено при анализе 3 групп (ПО, ЧО/КУ и отсутствие ответа), однако также видна тенденция повышения экспрессии генов, отвечающих за иммуномодулирующие свойства МСК (*IL6*, *IDO1*, *IL1BR1*, *ICAM1*) в группе неэффективных, кроме того, повышен относительный уровень экспрессии генов основным фактором роста фибробластов (*FGF2*) и рецептора ИЛ-1 β (*IL1BR1*); табл. 4. При объединении групп ПО и ЧО/КУ достоверно отличается относительный уровень экспрессии *VEGF*.

Анализ среднего уровня флуоресценции поверхностных маркеров на МСК из 2 групп показал достоверные отличия между эффективными и неэффективными для терапии оРТПХ образцами МСК (табл. 5). В эффективных образцах МСК экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости, CD90 и PDL-1 повышена по сравнению с неэффективными.

Обсуждение

В метаанализ результатов терапии резистентной к глюкокортикостероидам РТПХ с использованием МСК включены данные более 25 крупных исследований [22, 29]. Большинство из них использует МСК стороннего донора, при этом клиники получают клетки из других учреждений, что не позволяет изучать свойства отдельных образцов МСК и сопоставлять их с клиническими результатами. В нашем исследовании получена уникальная возможность проанализировать все образцы МСК, использованные для лечения оРТПХ, резистентной к глюкокортикостероидам, и сопоставить характеристики МСК с эффективностью терапии.

Данные об эффективности МСК в терапии резистентных форм РТПХ очень разнятся, ПО наблюдается у 6,5–54,5%, ЧО – у 17–50,7% пациентов [11, 22]. Показано, что МСК более эффективны у пациентов детского возраста [13,

30, 31]. В нашем исследовании зависимости эффективности терапии от возраста доноров и пациентов не выявлено. Возможно, это связано с тем, что вся когорта лиц, включенных в исследование, взрослая.

Отсутствие крупных исследований не позволяет выявить факторы, влияющие на эффективность МСК, как со стороны самих клеток (протоколы получения и введения, характеристики клеток), так и со стороны пациентов (у кого может быть достигнут ответ на лечение, сроки, дозы и т.п.) [32]. В анализе, включившем 15 работ по лечению резистентной к глюкокортикостероидам РТПХ у 558 пациентов (269 взрослых и 289 детей), по данным разных исследователей, продемонстрировано, что вероятность ОВ в течение 6 мес составила от 37 до 71%, 24 мес – от 17,4 до 40%, что превышает результаты некоторых других подходов к терапии. В нашем исследовании получены практически аналогичные результаты: ОВ в течение 6 мес составила 63%, в течение 2 лет – 48%.

Известно, что эффективность лечения при резистентных формах РТПХ может определяться вовлечением органов-мишеней. Так, при поражении печени и кишечника реже отмечаются ПО на лечение. Эффективность терапии РТПХ с помощью МСК также зависит от пораженных органов [23, 33, 34]. Лучший ответ, по данным других исследователей, достигается при лечении РТПХ с поражением кожи, при более низкой степени РТПХ и при большем количестве введений [35]. В нашем исследовании локализация и степень поражения не оказывали значительного влияния на эффективность ответа на терапию, нередко отмечался положительный эффект на лечение у пациентов с прогностически неблагоприятными формами РТПХ с поражением кишечника, при сочетанном вовлечении органов.

Некоторые исследователи предполагают, что более раннее после диагностики резистентности к глюкокортикостероидам введение МСК эффективнее [36]. Мы не отметили такого влияния времени начала терапии МСК на эффективность лечения.

Большинство опубликованных работ описывает введение МСК от стороннего донора. В нашем исследовании име-

лась возможность проанализировать также введение МСК от собственного донора гемопоэтических клеток. Не выявлено зависимости эффективности терапии с использованием МСК от того, вводились клетки от собственного донора гемопоэтических клеток или от стороннего (не совместимого по антигенам HLA) донора.

Ранее не выявлено никаких факторов, прогнозирующих эффективность использования МСК при внутривенном введении [29]. В нашем исследовании характеристик использованных МСК обнаружены отличия между эффективными и неэффективными для терапии оРТПХ образцами. Оказалось, что на поверхности МСК из эффективных образцов достоверно выше экспрессированы молекулы главного комплекса гистосовместимости. Считалось, что молекулы HLA-ABC слабо экспрессированы, а HLA-DR крайне слабо экспрессированы на поверхности МСК [37, 38]. При анализе множества образцов выявились отличия в уровне экспрессии этих молекул. На эффективных образцах их экспрессия достоверно выше примерно в 1,5 раза. Известно, что при активации МСК, например интерфероном γ или при сокультивировании с лимфоцитами, экспрессия этих молекул сильно повышается [39]. Можно предполагать, что клетки из эффективных образцов более активны в ингибировании Т-клеток, вызывающих РТПХ, за счет повышенной способности к иммуномодуляции. Более того, достоверное повышение экспрессии CD274(PDL-1) свидетельствует о более высокой способности ингибировать пролиферацию Т-клеток. Известно, что в присутствии PDL-1 снижаются пролиферация Т-клеток и секреция ими цитокинов [40].

В эффективных для лечения образцах МСК отмечалась меньшая суммарная клеточная продукция, чем в неэффективных, что коррелирует с экспрессией *FGF2* и *IL1BR1*. Пролiferация МСК стимулируется основным фактором

роста фибробластов (*FGF2*) и ИЛ-1 β (*IL1B*) [41, 42]. Несмотря на отсутствие достоверных различий, в неэффективных МСК повышен относительный уровень экспрессии генов *FGF2* и рецептора *IL1BR1* (см. табл. 3).

Мировое научное сообщество пытается рационализировать клиническое применение МСК и выявить закономерности успешной и неуспешной терапии [11, 29]. Ранее нами выявлены различия в свойствах МСК при взаимодействии с лимфоцитами [43]. На основании этой работы проведен анализ всех МСК, использованных для лечения оРТПХ, который выявил существенные различия между эффективными и неэффективными образцами. Эти данные позволяют выбирать потенциально более эффективные образцы для лечения оРТПХ, что может в дальнейшем улучшить клинические результаты.

Заключение

Терапия РТПХ с помощью МСК показала сопоставимую эффективность по сравнению с другими методами терапии оРТПХ, резистентной к глюкокортикоидам РТПХ. Учитывая низкий процент осложнений и высокую эффективность при крайне неблагоприятных формах РТПХ (3–4-я степень, вовлечение кишечника), этот подход представляется одним из оптимальных для лечения данного осложнения. Дальнейшие изучение и подбор оптимальных для терапии образцов МСК могут позволить добиться лучших результатов терапии резистентных форм оРТПХ.

Благодарности

В работе использованы материалы, поддержанные грантом Российского фонда фундаментальных исследований (проект №19-29-04023).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- 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/NEJMra1609337
- Choi SW, Levine JE, Ferrara JLM. Pathogenesis and management of graft-versus-host disease. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2010;30:75-101 doi: 10.1016/j.iac.2009.10.001
- Allen JL, Fore MS, Wooten J, et al. B cells from patients with chronic GVHD are activated and primed for survival via BAFF-mediated pathways. *Blood*. 2012;120:2529-36. doi: 10.1182/blood-2012-06-438911
- Perkins J, Field T, Kim J, et al. A Randomized Phase II Trial Comparing Tacrolimus and Mycophenolate Mofetil to Tacrolimus and Methotrexate for Acute Graft-versus-Host Disease Prophylaxis. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2010;16:937-47. doi: 10.1016/j.bbmt.2010.01.010
- Nakane T, Nakamae H, Yamaguchi T, et al. Use of mycophenolate mofetil and a calcineurin inhibitor in allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation from HLA-matched siblings or unrelated volunteer donors: Japanese multicenter phase II trials. *Int J Hematol*. 2017;105:485-96. doi: 10.1007/s12185-016-2154-4
- 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/NEJMra1609337
- Hill L, Alousi A, Kebriaei P, et al. New and emerging therapies for acute and chronic graft versus host disease. *Ther Adv Hematol*. 2018;9:21-46. doi: 10.1177/2040620717741860
- Ruutu T, Gratwohl A, De Witte T, et al. Niederwieser, Prophylaxis and treatment of GVHD: EBMT-ELN working group recommendations for a standardized practice. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49:168-73. doi: 10.1038/bmt.2013.107
- Bader P, Kuçi Z, Bakhtiar S, et al. Effective treatment of steroid and therapy-refractory acute graft-versus-host disease with a novel mesenchymal stromal cell product (MSC-FFM). *Bone Marrow Transplant*. 2018;53:852-62. doi: 10.1038/s41409-018-0102-z
- Deeg HJ. How I treat refractory acute GVHD. *Blood*. 2007;109:4119-26. doi: 10.1182/blood-2006-12-041889
- Elgaz S, Kuçi Z, Kuçi S, et al. Clinical Use of Mesenchymal Stromal Cells in the Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease. *Transfus Med Hemotherapy*. 2019;46:27-34. doi: 10.1159/000496809
- Kitko CL, Levine JE. Extracorporeal photopheresis in prevention and treatment of acute GVHD. *Transfus Apher Sci*. 2015;52:151-6. doi: 10.1016/j.transci.2015.02.001
- Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*. 2004;363:1439-41. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16104-7
- Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*. 2006;107:367-72. doi: 10.1182/blood-2005-07-2657
- Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:726-36. doi: 10.1038/nri2395
- Dan YY, Riehle KJ, Lazaro C, et al. Isolation of multipotent progenitor cells from human fetal liver capable of differentiating into liver and mesenchymal lineages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:9912-7. doi: 10.1073/pnas.0603824103
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8:315-7. doi: 10.1080/14653240600855905

18. Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol.* 2002;30:42-8.
19. Jones BJ, McTaggart SJ. Immunosuppression by mesenchymal stromal cells: from culture to clinic. *Exp Hematol.* 2008;36:733-41. doi: 10.1016/j.exphem.2008.03.006
20. Le Blanc K, Davies LC. MSCs-cells with many sides. *Cytotherapy.* 2018;20:273-8. doi: 10.1016/j.jcyt.2018.01.009
21. Zhao L, Chen S, Yang P, et al. The role of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation: prevention and treatment of graft-versus-host disease. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10:182. doi: 10.1186/s13287-019-1287-9
22. Fisher SA, Cutler A, Doree C, et al. Mesenchymal stromal cells as treatment or prophylaxis for acute or chronic graft-versus-host disease in haematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients with a haematological condition. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;1:CD009768. doi: 10.1002/14651858.CD009768.pub2
23. Galleu A, Milojkovic D, Deplano S, et al. Mesenchymal stromal cells for acute graft-versus-host disease: response at 1 week predicts probability of survival. *Br J Haematol.* 2019;185:89-92. doi: 10.1111/bjh.15749
24. Von Dalowski F, Kramer M, Wermke M, et al. Mesenchymal Stromal Cells for Treatment of Acute Steroid-Refractory Graft Versus Host Disease: Clinical Responses and Long-Term Outcome. *Stem Cells.* 2016;34:357-66. doi: 10.1002/stem.2224
25. Le Blanc K, Frassonni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet.* 2008;371:1579-86. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60690-X
26. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation.* 1974;18:295-304. doi: 10.1097/00007890-197410000-00001
27. Kuzmina LA, Petinati NA, Parovichnikova EN, et al. Multipotent Mesenchymal Stromal Cells for the Prophylaxis of Acute Graft-versus-Host Disease-A Phase II Study. *Stem Cells Int.* 2012;2012:968213. doi: 10.1155/2012/968213
28. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nat Protoc.* 2008;3:1101-8. doi: 10.1038/nprot.2008.73
29. Galipeau J, Sensébé L. Mesenchymal Stromal Cells: Clinical Challenges and Therapeutic Opportunities. *Cell Stem Cell.* 2018;22:824-33. doi: 10.1016/j.stem.2018.05.004
30. Krasowska-Kwiecien A, Gozdzik J, Jarocho D, et al. Mesenchymal Stem Cells as a Salvage Treatment for Severe Refractory Graft-versus-Host Disease in Children After Bone Marrow Transplantation. *Transplant Proc.* 2019;51:880-9. doi: 10.1016/j.transproceed.2019.01.023
31. Kurtzberg J, Prockop S, Teira P, et al. Allogeneic human mesenchymal stem cell therapy (remestemcel-L, Prochymal) as a rescue agent for severe refractory acute graft-versus-host disease in pediatric patients. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20:229-35. doi: 10.1016/j.bbmt.2013.11.001
32. Lukomska B, Stanaszek L, Zuba-Surma E, et al. Challenges and Controversies in Human Mesenchymal Stem Cell Therapy. *Stem Cells Int.* 2019;2019:1-10. doi: 10.1155/2019/9628536
33. Resnick IB, Barkats C, Shapira MY, et al. Treatment of severe steroid resistant acute GVHD with mesenchymal stromal cells (MSC). *Am J Blood Res.* 2013;3:225-38.
34. Sánchez-Guijo F, Caballero-Velázquez T, López-Villar O, et al. Sequential third-party mesenchymal stromal cell therapy for refractory acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20:1580-5. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.06.015
35. Chen X, Wang C, Yin J, et al. Efficacy of mesenchymal stem cell therapy for steroid-refractory acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015;10. doi: 10.1371/journal.pone.0136991
36. Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, et al. Multiple infusions of mesenchymal stromal cells induce sustained remission in children with steroid-refractory, grade III-IV acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol.* 2013;163:501-9. doi: 10.1111/bjh.12545
37. Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. *Scand J Immunol.* 2003;57:11-20.
38. Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol.* 2000;28:875-84.
39. Kapranov NM, Davydova YO, Galtseva IV, et al. Effect of priming of multipotent mesenchymal stromal cells with interferon γ on their immunomodulating properties. *Biochem.* 2017;82. doi: 10.1134/S000629791710008X.
40. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med.* 2000;192:1027-34. doi: 10.1084/jem.192.7.1027
41. Zhironkina OA, Shipounova IN, Bigildeev AE, et al. Proliferative potential of multipotent mesenchymal stromal cells from human bone marrow. *Bull Exp Biol Med.* 2012;152:543-7. doi: 10.1007/s10517-012-1571-5
42. Sotiropoulou PA, Perez SA, Salagianni M, et al. Characterization of the Optimal Culture Conditions for Clinical Scale Production of Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells.* 2006;24:462-71. doi: 10.1634/stemcells.2004-0331
43. Kapranov NM, Davydova YO, Gal'tseva IV, et al. Individual Differences of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells Manifesting in during Interaction with Lymphocytes. *Bull Exp Biol Med.* 2018;165:584-8. doi: 10.1007/s10517-018-4218-3

Поступила 13.04.2020

Исследование активирующих мутаций генов сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT при В-клеточных острых лимфобластных лейкозах взрослых

К.И. Зарубина, Е.Н. Паровичникова, В.Л. Сури́н, О.С. Пшеничникова, О.А. Гаврилина, Г.А. Исинова, В.В. Троицкая, А.Н. Соколов, И.В. Гальцева, Н.М. Капранов, Ю.О. Давыдова, Т.Н. Обухова, А.Б. Судариков, В.Г. Савченко

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель. Изучение активирующих мутаций генов (*NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2*, *CRLF2*) сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе (В-ОЛЛ) у взрослых больных, включенных в российские многоцентровые исследования.

Материалы и методы. В многоцентровое исследование включены 119 взрослых пациентов с впервые установленным В-ОЛЛ. Исследование носило проспективный и ретроспективный характер. Группа с *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ составила 93 больных (48 женщин и 45 мужчин от 17 до 59 лет, медиана возраста – 31 год), им проводили терапию по протоколам ОЛЛ-2009, ОЛЛ-2016. Медиана наблюдения составила 19 мес (1–119). В группу с *BCR-ABL1*-позитивным В-ОЛЛ включены 26 пациентов (16 женщин и 10 мужчин от 23 до 78 лет, медиана возраста – 34 года). Лечение проводили по протоколам ОЛЛ-2009 и ОЛЛ-2012 в сочетании с ингибиторами тирозинкиназы. Медиана наблюдения составила 23 мес (4–120). Молекулярный анализ активирующих мутаций для генов *NRAS*, *KRAS* (сигнальный путь RAS/RAF/MEK/ERK) и генов *JAK2*, *CRLF2* (сигнальный путь JAK/STAT) проводился методом секвенирования по Сэнгеру. Внутренние tandemные повторы (ITD) гена *FLT3* – рецепторной внутриклеточной тирозинкиназы, приводящие к запуску целого каскада реакций, относящихся к различным сигнальным путям, включая RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT, исследованы методом фрагментного анализа. Экспрессию белка CRLF2 оценивали методом проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Активирующие мутации в генах *NRAS*, *KRAS*, *FLT3* обнаружены у 22 (23,6%) больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ. В общей сложности выявлено 23 мутации в генах *NRAS* ($n=9$), *KRAS* ($n=12$), *FLT3* ($n=2$), что статистически значимо чаще, чем при *BCR-ABL1*-позитивном В-ОЛЛ, где мутации этих генов не выявлены ни у одного больного ($p=0,007$). Частота обнаружения мутаций в генах *KRAS* и *NRAS* у больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ сопоставима – 12,9% (12 из 93) и 9,7% (9 из 93) соответственно ($p=0,488$). У одного больного выявлено одновременно 2 мутации в гене *KRAS* (в кодонах 13 и 61). Мутацию *FLT3*-ITD детектировали в 3,5% (2 из 57) случаев *BCR-ABL1*-негативных В-ОЛЛ. У больных *BCR-ABL1*-позитивным В-ОЛЛ мутацию *FLT3*-ITD не оценивали. Нарушения в сигнальном каскаде JAK/STAT обнаружены у 4 (4,3%) больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ. Они представлены миссенс-мутациями гена *JAK2* ($n=3$) и гиперэкспрессией CRLF2 ($n=2$), у одного больного обнаружены одновременно гиперэкспрессия CRLF2 и мутация в гене *JAK2*. В гене *CRLF2* мутации не выявлены. У больных *BCR-ABL1*-позитивным В-ОЛЛ мутаций гена *JAK2* не выявлено. При анализе демографических и клинико-лабораторных показателей между группами больных с мутациями и без таковых статистически значимых различий не получено. В анализируемых группах больных долгосрочные результаты терапии в зависимости от наличия мутаций в генах *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2* не различались. Также не показано значимых отличий в скорости достижения негативного статуса минимальной остаточной болезни между пациентами с активирующими мутациями и без в контрольные сроки протокола (на 70, 133 и 190-й день).

Заключение. Активирующие мутации генов *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2* не влияют на долгосрочные результаты терапии и скорость достижения негативного статуса минимальной остаточной болезни у больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ при применении протоколов российского многоцентрового исследования.

Ключевые слова: В-клеточный острый лимфобластный лейкоз, *BCR-ABL1*-позитивный В-ОЛЛ, *BCR-ABL1*-негативный В-ОЛЛ, сигнальные пути, активирующие мутации генов *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2*, *CRLF2*.

Для цитирования: Зарубина К.И., Паровичникова Е.Н., Сури́н В.Л. и др. Исследование активирующих мутаций генов сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT при В-клеточных острых лимфобластных лейкозах взрослых. *Терапевтический архив*. 2020; 92 (7): 31–42. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000772

Detection of activating mutations in RAS/RAF/MEK/ERK and JAK/STAT signaling pathways

K.I. Zarubina, E.N. Parovichnikova, V.L. Surin, O.S. Pshenichnikova, O.A. Gavrulina, G.A. Isinova, V.V. Troitskaia, A.N. Sokolov, I.V. Gal'tseva, N.M. Kapranov, Yu.O. Davydova, T.N. Obukhova, A.B. Sudarikov, V.G. Savchenko

National Research Center for Hematology, Moscow, Russia

Issue. The study of activating mutations (*NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2*, *CRLF2* genes) of RAS/RAF/MEK/ERK and JAK/STAT signaling pathways in B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) in adult patients which are included in Russian multicenter clinical trials.

Materials and methods. Within the multicenter study there were 119 adult patients included with *de novo* B-ALL. The study was considered as prospective and retrospective. The group with *BCR-ABL1*-negative B-ALL consisted of up to 93 patients (45 male and 48 female, at the age of 17 to 59, the median age – 31), they were treated according to the protocols ALL-2009, ALL-2016. The median follow-up lasted for 19 months (1–119). The group with *BCR-ABL1*-positive B-ALL with up to 26 patients (10 male and 16 female, at the age of 23 to 78, the median age 34 years) was included in the study as well. The treatment was carried out according to the protocols ALL-2009 and ALL-2012 in combination with tyrosine kinase inhibitors. The median follow-up lasted for 23 months (4–120). The molecular analysis of activating mutations in *NRAS*, *KRAS* genes (RAS/RAF/MEK/ERK signaling pathway) and *JAK2*, *CRLF2* genes (JAK/STAT signaling cascade) was performed via Sanger sequencing. The internal tandem duplications (ITDs) in *FLT3* gene were studied by fragment analysis. The evaluation of CRLF2 expression was fulfilled via flow cytometry.

Results. Activating mutations in *NRAS*, *KRAS*, *FLT3* genes were found in 22 (23.6%) patients with *BCR-ABL1*-negative B-ALL. In total, 23 mutations were revealed in the *NRAS* ($n=9$), *KRAS* ($n=12$), and *FLT3* ($n=2$) genes, according to statistics that was significantly more frequent than with *BCR-ABL1*-positive B-ALL, these genes mutations were not identified in patients ($p=0.007$).

The frequency of mutations detection in *KRAS* and *NRAS* genes in patients with *BCR-ABL1*-negative B-ALL was comparable as 12.9% (12 of 93) to 9.7% (9 of 93), respectively ($p=0.488$). One patient was simultaneously revealed 2 mutations in the *KRAS* gene (in codons 13 and 61). *FLT3*-ITD mutations were detected in 3.5% (2 of 57) cases of *BCR-ABL1*-negative B-ALL. In patients with *BCR-ABL1*-positive B-ALL *FLT3*-ITD mutations were not assessed. Violations in the JAK/STAT signaling cascade were detected in 4 (4.3%) patients with *BCR-ABL1*-negative B-ALL. They were represented by the missense mutations of *JAK2* gene ($n=3$) and the overexpression of *CRLF2* ($n=2$); in one patient were detected the overexpression of *CRLF2* and a mutation in *JAK2* gene simultaneously. No mutations were found in *CRLF2* gene. In patients with *BCR-ABL1*-positive B-ALL no *JAK2* mutations were detected. As long as analyzing demographic and clinical laboratory parameters between groups of patients with and without mutations, there were no statistically significant differences obtained. In the analyzed groups of patients, long-term therapy results did not differentiate according to the mutations presence in *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2* genes. Also, substantive differences were not shown in the rate of the negative status achievement of the minimum residual disease between patients with and without activating mutations in the control points of the protocol (on the 70th, 133rd and 190th days).

Conclusion. *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2* activating mutations do not affect the long-term results of the therapy and the rate of the negative status achievement of the minimum residual disease in patients with *BCR-ABL1*-negative B-ALL treated by the Russian multicenter clinical trials.

Keywords: *B-cell acute lymphoblastic leukemia, BCR-ABL1-positive B-ALL, BCR-ABL1-negative B-ALL, signaling pathways, activating mutations of NRAS, KRAS, FLT3, JAK2, CRLF2 genes.*

For citation: Zarubina K.I., Parovichnikova E.N., Surin V.L., et al. Detection of activating mutations in RAS/RAF/MEK/ERK and JAK/STAT signaling pathways. *Therapeutic Archive.* 2020; 92 (7): 31–42. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000772

Алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток
 Ауто-ТГСК – трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток
 БРВ – безрецидивная выживаемость
 В-ОЛЛ – В-клеточный острый лимфобластный лейкоз
 ВРР – вероятность развития рецидива
 ГДФ – гуанозин-5'-дифосфат
 ГТФ – гуанозин-5'-трифосфат
 ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
 ИТК – ингибиторы тирозинкиназ
 ЛДГ – лактатдегидрогеназа
 МОБ – минимальная остаточная болезнь
 ОБ – общая выживаемость
 ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз
 ПЦР – полимеразная цепная реакция
 СЦИ – стандартное цитогенетическое исследование
 ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
BCR-ABL1 – патологический химерный ген, образованный в результате транслокации путем слияния генов *BCR* и *ABL1*
BRAF – ген, кодирующий белок серин/треонин-киназу В-Raf
CDKN2A/B – гены, кодирующие белки, ингибирующие циклинзависимые киназы семейств INK4A и INK4B
CREBBP – ген, кодирующий CREB-связывающий белок
CRLF2 – ген, кодирующий подобный цитокиновым рецепторам фактор 2
EBF1 – ген, кодирующий транскрипционный фактор EBF1
 FISH – флуоресцентная гибридизация *in situ*
FLT3 – *fms*-подобная тирозинкиназа 3

GNEF – гуанин-нуклеотид-обменные факторы
 HRAS – трансформирующий онкоген, который вызывает опухоли при заражении вирусом саркомы Харви
IGH-CRLF2 – химерный ген, возникающий вследствие транслокации *CRLF2* в хромосомный район 14q32
IKZF1 – ген ДНК-связывающего белка Икарос
IL7R – ген, кодирующий рецептор интерлейкина-7
 ITD – внутренние тандемные повторы
 JAK/STAT – сигнальный путь передачи сигнала с рецепторов цитокинов
 JAK1, JAK2 – янус-киназы рецепторов цитокинов
 KRAS – трансформирующий онкоген, который вызывает опухоли при заражении вирусом саркомы Кирстен
NRAS – гомолог вирусного онкогена RAS нейробластомы
NT5C2 – ген, кодирующий цитозольную 5'-нуклеотидазу
P2RY8-CRLF2 – химерный ген, возникающий вследствие фокальной делеции участка псевдоаутосомного региона PAR1 на X или Y-хромосоме
PAX5 – ген, кодирующий транскрипционный фактор Pax-5
PTPN11 – ген, кодирующий протеин-тирозин-фосфатазу нерцепторного типа 11
 RAS – семейство генов, кодирующих малые G-белки (малые ГТФазы)
 RAS/RAF/MEK/ERK – сигнальный каскад митогенактивируемой протеинкиназы
RBI – ген ретинобластомы 1
TBL1XR1 – трансдудин (бета)-подобный 1 X-связанный рецептор 1
TP53 – ген-онкосупрессор с молекулярным весом 53 kD
 WT – дикий тип гена

Введение

В-клеточные острые лимфобластные лейкозы (В-ОЛЛ) представляют собой крайне гетерогенную в отношении биологических свойств группу злокачественных заболеваний системы крови, характеризующихся неконтролируемой пролиферацией предшественников В-лимфоцитов в костном мозге, периферической крови и других органах [1, 2]. Применение методов массивного параллельного секвенирования (полноэкзомное и транскриптомное секвенирование) позволяет проводить детальные исследования генома, которые вместе с профилированием экспрессии генов в значительной степени расширяют понимание патогенеза острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ). Многочисленные исследования последних лет с применением описанных подходов позволили определить спектр соматических мутаций в генах, вовлеченных в многочисленные сигнальные пути [3]. В частности, у больных В-ОЛЛ соматические мутации выявлены

в генах лимфоидной дифференцировки В-клеток (*PAX5*, *IKZF1*, *EBF1*), сигнальных путей RAS (*NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *PTPN11*) и JAK/STAT (*JAK1*, *JAK2*, *IL7R*, *CRLF2*), генах, участвующих в регуляции клеточного цикла, и онкосупрессоров (*TP53*, *RBI*, *CDKN2A/B*), а также в генах неканонических сигнальных путей (*CREBBP*, *NT5C2*, *TBL1XR1*) [4, 5].

Нарушение регуляции сигнального каскада RAS/RAF/MEK/ERK часто сочетается с выявлением соматических активирующих мутаций в генах *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *PTPN11* и *BRAF*, определяющих активность этого сигнального пути.

Три гена *RAS* кодируют 4 высокомолекулярных белка массой 21 кДа: HRAS, NRAS, KRAS4A и KRAS4B, причем 2 последних – продукты альтернативного сплайсинга. Все эти белки мембраносвязанные и относятся к семейству малых G-белков (малые ГТФазы), имеющих соответствующую каталитическую (ГТФазную) активность. Они являются сигнальными переключателями молекулами, которые существуют

в 2 различных структурно-функциональных конформациях: связанные с гуанозин-5'-трифосфатом – ГТФ (активные) или связанные с гуанозин-5'-дифосфатом – ГДФ (неактивные) [6, 7].

Связывание лиганда с рецептором на клеточной поверхности создает внутриклеточные сайты для адаптерных молекул и сигнальных белков, например для Shc (Src-гомологичные коллагеновые белки), Grb2 (рецептор фактора роста, связанный с протеином-2), тирозиновой протеинфосфатазы SHP-2, которые рекрутируют и активируют гуанин-нуклеотид-обменные факторы (GNEF), такие как SOS1 и SOS2, RasGRFS1, RasGRFS2 и RasGRP1-RasGRP4 [8]. GNEF способствуют переходу из ГДФ-связанного состояния в ГТФ-связанное (активное). При связывании с ГТФ белок принимает конформацию, которая способствует активации нижестоящих эффекторов. Таким образом, RAS соединяет внеклеточные стимулы с внутриклеточными сигнальными сетями.

Активность белков RAS регулируется белками GAPs (белки-активаторы ГТФазной активности), которые ускоряют реакцию гидролиза ГТФ до ГДФ и высвобождение связанного фактора GNEF, опосредуя таким образом инактивацию белков RAS. Белки RAS с активирующими миссенс-мутациями нечувствительны к GAP и постоянно

пребывают в активном состоянии. Таким образом, процесс активации сигнального пути RAS/RAF/MEK/ERK становится непрерывным, что приводит к чрезмерной пролиферативной активности клетки и как следствие – инициации опухолевых процессов.

Активирующие мутации в генах семейства RAS описаны примерно у 15% больных В-ОЛЛ [9, 10]. Однако зачастую проведенные исследования ограничивались определенными подтипами заболевания (например, группами высокого риска), или были технически ограничены в чувствительности метода (не учитывались субклональные мутации), или же рассматривались мутации только в контексте геномных исследований, но не изучалось их прогностическое значение у больных ОЛЛ [11–15]. Все это свидетельствует о неоднозначности представлений относительно прогностического значения мутаций в генах семейства RAS у взрослых больных В-ОЛЛ.

Недавние исследования показали, что мутации в генах *NRAS*, *KRAS*, *FLT3* и *PTPN11* сигнального каскада RAS/RAF/MEK/ERK чаще наблюдаются в рецидиве заболевания (34–38% случаев) и являются фактором неблагоприятного прогноза [15, 16]. Продемонстрировано, что RAS-мутантные клоны, обнаруживаемые в рецидиве заболевания, уже существовали в виде небольших субклонов у больных *de novo* В-ОЛЛ [17–19]. Интересен факт, что в некоторых случаях при рецидивах мутантные клоны RAS сохранялись или появлялись, тогда как в других аналогичные клоны, присутствовавшие при первичной диагностике, замещены популяциями RAS дикого типа, что предполагает возможность как положительной, так и отрицательной селекции в клональной эволюции RAS-мутантных ОЛЛ. Исследование К. Oshima и соавт. (2016 г.) показало, что лимфоциты с мутациями в генах RAS проявляют устойчивость к действию метотрексата, но при этом высокочувствительны к винкристину. Эти результаты подчеркивают ключевую роль химиотерапевтической селекции как центрального механизма клональной эволюции при рецидивировании ОЛЛ, а также демонстрируют ранее не признанную двойственную роль мутаций в генах RAS в качестве факторов, влияющих как на чувствительность, так и на устойчивость к химиотерапии [16].

Янус-киназа 2 (JAK2) является членом семейства рецепторных тирозинкиназ и опосредует внутриклеточную передачу сигналов при активации цитокиновых рецепторов, в которых отсутствует собственный тирозинкиназный домен, таких как подобный цитокиновым рецепторам фактор 2. Связывание лигандов (тимусный стромальный лимфопоэтин – TSLP для CLRF2) индуцирует димеризацию целей цитокиновых рецепторов, что приводит к активации белков JAK2 посредством перекрестного фосфорилирования. Далее JAK2 активирует белки STAT (преобразователи сигналов и активаторы транскрипции), которые после димеризации мигрируют в ядро и индуцируют транскрипцию генов, участвующих в дифференцировке и пролиферации гемопоэтических клеток [20].

Активирующие мутации гена JAK2 описаны у 7% больных В-ОЛЛ из группы высокого риска и 18–28% детей с В-ОЛЛ и синдромом Дауна [21, 22]. Мутации генов *JAK1* и

Сведения об авторах:

Паровичникова Елена Николаевна – д.м.н., проф., рук. отд. химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и ТКМ. ORCID: 0000-0001-6177-3566

Сурин Вадим Леонидович – исполняющий обязанности рук. лаб. генной инженерии. ORCID: 0000-0002-1890-4492

Пшеничникова Олеся Сергеевна – к.б.н., ст. науч. сотр. лаб. генной инженерии. ORCID: 0000-0001-5752-8146

Гаврилина Ольга Александровна – к.м.н., врач-гематолог, ст. науч. сотр. отд-ния интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром. ORCID: 0000-0002-9969-8482

Исинова Галина Александровна – к.м.н., врач-гематолог отд-ния интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром. ORCID: 0000-0003-2763-5391

Троицкая Вера Витальевна – к.м.н., зав. отд-нием интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром. ORCID: 0000-0002-4827-8947

Соколов Андрей Николаевич – к.м.н., ст. науч. сотр. отд-ния интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром. ORCID: 0000-0003-1494-7978

Гальцева Ирина Владимировна – к.м.н., зав. лаб. иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга. ORCID: 0000-0002-8490-6066

Капранов Николай Михайлович – медицинский физик, лаб. иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга. ORCID: 0000-0002-6512-910x

Давыдова Юлия Олеговна – врач клинической лабораторной диагностики, лаб. иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга. ORCID: 0000-0001-5932-0285

Обухова Татьяна Никифоровна – к.м.н., зав. лаб. карииологии. ORCID: 0000-0003-1613-652X

Судариков Андрей Борисович – д.б.н., зав. научно-клинической лаб. молекулярной гематологии. ORCID: 0000-0001-9463-9187

Савченко Валерий Григорьевич – акад. РАН, д.м.н., проф., дир. ORCID: 0000-0001-8188-5557

Контактная информация:

Зарубина Ксения Игоревна – аспирант, врач-гематолог отд-ния интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром. E-mail: ksenijazarubina@mail.com; ORCID: 0000-0003-2947-6398

JAK2 затрагивают высококонсервативные позиции киназного и псевдокиназного доменов и приводят к конститутивной активации *JAK/STAT*-сигнального пути независимо от активации цитокиновых рецепторов [23, 24]. Наиболее часто встречающейся соматической вариацией у больных В-ОЛЛ является R683G, замена аргинина на глицин в позиции 683 псевдокиназного домена [22]. В спектроскопических экспериментах показано, что Arg683 играет важную роль в сохранении компактной структуры псевдокиназного JH2-домена, а замена R683G нарушает эту структуру и приводит к значительному увеличению фосфорилирующей активности белка [25].

С мутациями в генах *JAK* с высокой частотой сочетаются делеции в генах *IKZF1* (*IKAROS*) и *CDKN2A/B* [21]. Кроме того, активирующие мутации генов *JAK* тесно связаны с нарушениями регуляции гена, подобного цитокиновому рецептору фактора 2 (*CRLF2*-cytokine receptor-like factor 2), а именно его перестройками с образованием химерных генов *IGH-CRLF2* и *P2RY8-CRLF2* и высокой экспрессией *CRLF2* [26]. Изначально считалось, что гиперэкспрессия *CRLF2* обусловлена образованием описанных химерных генов [27]. Однако позднее продемонстрировано, что примерно в 20% случаев гиперэкспрессия *CRLF2* связана с наличием дополнительных копий *CRLF2* в геноме [28]. Кроме того, в гене *CRLF2* описаны активирующие мутации [29].

Клиническое значение мутаций в генах *JAK* показано в исследовании С. Mullighan и соавт. (2009 г.), которые установили, что при их наличии профиль экспрессии генов сходен с наблюдаемым при *BCR-ABL1*-подобном педиатрическом ОЛЛ, и они, как правило, сочетаются с неблагоприятным прогнозом заболевания [21].

Активация сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK и *JAK/STAT* может быть опосредована внутренними тандемными повторами в гене внутриклеточной рецепторной тирозинкиназы *FLT3* [30, 31]. Несмотря на то, что мутации гена *FLT3* являются достаточно распространенным событием при острых миелоидных лейкозах (частота детекции около 20%), они описаны лишь у небольшого числа пациентов с ОЛЛ [32, 33]. Основная часть исследований по изучению частоты мутации *FLT3*-ITD при ОЛЛ проводилась у детей. Наиболее часто мутации *FLT3*-ITD (20–25% случаев) описаны у больных ОЛЛ с гиперплоидным кариотипом, перестройкой гена *MLL* (mixed-lineage leukemia), а также при острых лейкозах со смешанным фенотипом [34]. Мутация *FLT3*-ITD приводит к независимой от лиганда димеризации и неконтролируемой активации рецептора и вызывает бесконтрольную пролиферацию клеток [31].

Клиническое значение активирующих мутаций в генах *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2*, *CRLF2* у больных, которым проводили терапию по протоколам российских многоцентровых исследований, неизвестно. Ранее в наших исследованиях при использовании принципов цитостатического воздействия, применяемых в протоколах ОЛЛ-2009, ОЛЛ-2012 и ОЛЛ-2016, нам не удалось подтвердить неблагоприятное влияние на исход заболевания ряда молекулярно-генетических маркеров, таких как делеции гена *IKZF1* и *CDKN2* (p16), которые в зарубежных исследованиях определены как факторы плохого прогноза [35–37]. Связано это, вероятнее всего, с тем, что разные протоколы, основанные на разных принципах цитостатического воздействия, формируют разные факторы риска.

С учетом всего описанного изучение биологической и клинической роли мутаций *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2*, *CRLF2* у взрослых больных В-ОЛЛ при проведении химио-

терапии по протоколам российских многоцентровых исследований является актуальной задачей.

Материалы и методы

В исследование включены 119 взрослых пациентов с впервые установленным В-ОЛЛ. Среди них группа с *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ составила 93 больных (48 женщин и 45 мужчин от 17 до 59 лет, медиана возраста – 31 год): 62 пациента, включенные в исследование с ноября 2016 г. по ноябрь 2019 г., получали лечение по протоколу ОЛЛ-2016, 31 пациенту лечение проводили по протоколу ОЛЛ-2009 с августа 2009 г. по август 2016 г. Медиана наблюдения составила 18 мес (1–119). В группу с *BCR-ABL1*-позитивным В-ОЛЛ включены 26 пациентов (16 женщин и 10 мужчин от 23 до 78 лет, медиана возраста 34 года), им проводили лечение по протоколам ОЛЛ-2009 ($n=3$) и ОЛЛ-2012 ($n=23$) в сочетании с ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) с февраля 2010 г. по октябрь 2019 г. Медиана наблюдения составила 23 мес (4–120).

Дизайн исследования ОЛЛ-2009 (ClinicalTrials.gov NCT01193933) неоднократно представлен ранее [38–40]. Новый исследовательский протокол ОЛЛ-2016 (ClinicalTrials.gov NCT03462095) стартовал с ноября 2016 г., в нем сохранены основные принципы протокола ОЛЛ-2009. Ключевыми отличиями от прежней программы являются отсутствие высокодозной консолидации, а также централизованный мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) методом многоцветной проточной цитофлуориметрии [41]. Протокол ОЛЛ-2012 основан на протоколе ОЛЛ-2009, отличие его заключается в деэскалации химиотерапевтического воздействия и включении в программу ИТК [42].

Диагноз ОЛЛ устанавливали на основании клинических и лабораторных исследований согласно критериям Классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей Всемирной организации здравоохранения 2016 г. [43].

Всем больным в дебюте заболевания выполняли стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ), а также флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) на интерфазных ядрах для диагностики транслокаций t(9;22)(q34;q11) и t(4;11)(q21;q23). Ряду больных проводили FISH-исследования для выявления делеции 9p21, интрахромосомной амплификации хромосомы 21, делеции TP53/17p13, транслокаций с вовлечением локуса гена *ETV6/12p13* и *IGH/14q32*.

Спектр цитогенетических нарушений у больных *BCR-ABL1*-негативными и *BCR-ABL1*-позитивными В-ОЛЛ представлен в табл. 1. Стоит отметить, что у 2 больных с нормальным кариотипом по данным СЦИ при FISH-исследовании выявлена делеция гена *CDKN2A/9p21* в одном случае биаллельная, в другом – моноаллельная. У 2 больных, СЦИ которым не выполняли, при FISH-исследовании в одном случае выявлена биаллельная делеция *CDKN2A/9p21*, а в другом – транслокация с вовлечением региона 11q23.

Исследование клиренса МОБ методом многоцветной проточной цитофлуориметрии выполнено 62 пациентам с *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ. Из них 53 пациентам проводили терапию по протоколу ОЛЛ-2016, 9 больным – по протоколу ОЛЛ-2009. Исследование МОБ химерного транскрипта *BCR-ABL1* у больных *BCR-ABL1*-позитивными В-ОЛЛ проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Всем больным *de novo* *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ до начала терапии оценивали экспрессию *CRLF2* методом многоцветной проточной цитофлуориметрии, а также прово-

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика 119 пациентов, включенных в исследование

Показатель	В-ОЛЛ	
	BCR-ABL1-негативный ОЛЛ, n (%)	BCR-ABL1-позитивный ОЛЛ, n (%)
Число пациентов	93	26
ИФТ-вариант острого лейкоза		
Ранний пре-В (В1)	18 (19)	2 (8)
Общий В (ВII)	60 (65)	23 (88)
Пре-В (ВIII)	11 (12)	1 (4)
Смешанный (В/миелоидный)	4 (4)	0
Исходная группа риска по ОЛЛ-2009		
Стандартная	33 (35)	–
Высокая	60 (65)	–
Нормальный кариотип	32 (34,4)	6 (23)
Нет митозов	14 (15)	6 (23)
Цитогенетические аберрации	47 (50)	14 (54)
Структурные цитогенетические аберрации		
Транслокация с вовлечением региона 11q23	7 (8,6)	1 (3,8)
Транслокация с вовлечением региона 11q23 в составе комплексного кариотипа	2 (2,15)	0
t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX	2 (2,15)	0
CDKN2A/9p21	5 (5,4)	0
iAMP21	1 (1)	0
Транслокация с вовлечением локуса гена ETV6/12p13	2 (2,15)	0
Транслокация с вовлечением локуса гена IGH/14q32	1 (1)	0
Делеция TP53/17p13	1 (1)	1 (3,8)
Численные цитогенетические аберрации		
Гиперплоидия (более 46 хромосом)	12 (12,9)	1 (3,8)
Гипоплоидия (менее 46 хромосом)	4 (4,3)	5 (19)
Моносомия 7	4 (4,3)	3 (11,5)
Комплексные нарушения кариотипа, n	15 (16)	2 (7,6)
Молекулярные нарушения		
Делеция IKZF1	12/85 (14)	6/12 (50)
Медиана возраста (диапазон), лет	31 (17–59)	34 (23–78)
Лейкоциты, медиана (диапазон), ×10 ⁹ /л	8,1 (0,4–812)	43,1 (2,8–412,8)
ЛДГ, медиана (диапазон), Ед/л	839 (200–20062)	1294 (508–5451)
Бластные клетки		
В костном мозге (диапазон), %	80,6 (6,8–100)	86 (31,6–96,8)
В периферической крови (диапазон), %	22 (0–95)	70 (8–94)
Спленомегалия	65/88 (73,9)	18/24 (75)
Гепатомегалия	57/86 (66,3)	21/24 (87,5)
Нейролейкемия	10/87 (11,5)	4/25 (16)
Образование переднего средостения	4/87 (4,6)	0

Примечание. Здесь и далее в табл. 2: дробные значения означают, что в случае данных параметров выборка неполная. Числитель дроби обозначает число больных с определенным признаком, знаменатель – размер выборки.

дили анализ внутригенных делеций гена *IKZF1* и внутренних tandemных повторов (ITD) гена *FLT3*. У больных *de novo* BCR-ABL1-позитивным В-ОЛЛ проводили анализ только внутригенных делеций гена *IKZF1*.

Для анализа мутаций в генах *NRAS*, *KRAS* (экзоны 2, 3 и 4), *JAK2* (экзоны 14, 16 и 20), *CRLF2* (экзоны 2, 6), ведущих к aberrантной активации соответствующих белков, применяли секвенирование по Сэнгеру. Олигонуклеотидные прай-

меры, которые использовали в работе для ПЦР-амплификации и секвенирования фрагментов генов, разработаны специально для данного исследования на базе лаборатории генной инженерии (ФГБУ «НМИЦ гематологии») и синтезированы в ЗАО «Синтол» (Москва).

Полученные последовательности сопоставлялись с соответствующими референсными последовательностями из базы NCBI (*NRAS* – EU332857, *KRAS* – NG_007524, *JAK2* –

NG_009904, *CRLF2* – NG_034237). При анализе последовательностей использовали программный пакет BioEdit [44]. Молекулярные исследования проводились вслепую относительно клинических данных.

Всем больным *de novo* *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ выполняли анализ мутаций в генах *NRAS*, *KRAS*, *JAK2* и *CRLF2*. Больным *de novo* *BCR-ABL1*-позитивным В-ОЛЛ до начала терапии выполняли анализ мутаций в генах *NRAS*, *KRAS*, *JAK2*. Оценка мутационного статуса гена *CRLF2* и его экспрессии не проводилась.

Статистический анализ осуществляли с помощью программного пакета IBM SPSS Statistics 23 и GraphPad Prism 6 (GraphPadSoftware, Inc.). Перед проверкой различий средних значений выборок проводили тест Шапиро–Уилка на нормальность распределения (отличным от нормального считали распределение при уровне значимости $p < 0,05$). Проверку статистической значимости различий средних выборок с нормальным распределением выполняли с помощью *t*-критерия Стьюдента, для выборок с ненормальным распределением применяли критерий Манна–Уитни. Для проверки независимости качественных признаков использовали χ^2 -критерий Пирсона или точный критерий Фишера (если в таблицах сопряженности ожидаемые значения меньше 5), независимыми считали признаки при $p < 0,05$. Анализ общей выживаемости (ОВ), безрецидивной выживаемости (БРВ), вероятности развития рецидива (ВРР) проводили методом Каплана–Мейера, статистическую значимость различий между кривыми выживаемости в группах определяли с помощью теста log-rank. Все различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

У 22 (23,6%) больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ обнаружено 23 мутации в генах сигнального каскада RAS/RAF/MEK/ERK [*NRAS* ($n=9$), *KRAS* ($n=12$), *FLT3* ($n=2$)]. Частота обнаружения мутаций в генах *KRAS* и *NRAS* сопоставима и составила 12,9% (12 из 93) и 9,7% (9 из 93) соответственно ($p=0,488$). У одного больного выявлено одновременно 2 мутации в гене *KRAS* (в кодонах 13 и 61). У больных *BCR-ABL1*-позитивным В-ОЛЛ мутации описанных генов не выявлены. Мутацию *FLT3*-ITD детектировали в 3,5% (2 из 57) случаев. У больных *BCR-ABL1*-позитивным В-ОЛЛ мутацию *FLT3*-ITD не оценивали.

Нарушения в генах *KRAS* и *NRAS* во всех случаях представлены миссенс-мутациями. В гене *NRAS* найдено 5 различных вариантов (G12D – 3 случая, G12C – 1, G12S – 1, G13D – 3, Q61H – 1), в гене *KRAS* – 7 вариантов (G12D – 5 случаев, G12A – 1, G12V – 1, G13D – 1, Q61L – 1, A146T – 2, K117N – 1). Анализ частоты встречаемости мутаций в различных кодонах генов *NRAS* и *KRAS* показал, что чаще всего мутации детектируются в кодонах 12 и 13 – в 16 случаях из 21 (76%). Среди мутаций *NRAS* в 3 случаях они клональные и в 6 субклональные. Клональные мутации в гене *KRAS* определены у 5 больных, у остальных 7 они субклональные. Распределение мутаций внутри генов представлено на **рис. 1 (см. на цветной вклейке)**.

У 4 (4,3%) больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ обнаружены нарушения в сигнальном каскаде JAK/STAT. Они представлены миссенс-мутациями гена *JAK2* ($n=3$) и гиперэкспрессией *CRLF2* ($n=2$). В одном случае наблюдались одновременно гиперэкспрессия *CRLF2* и мутация в гене *JAK2*. В гене *CRLF2* ни у кого из 70 обследованных пациентов мутации не выявлены. Мутации гена *JAK2* выявлены у 3,4% (у 3 из 89) больных: R683G, D873N и L892V. Две обнаружен-

ные мутации субклональные, одна носила клональный характер. Распределение мутаций гена *JAK2* представлено на **рис. 1**. Мутации гена *CRLF2* и экспрессию *CRLF2* в группе больных *BCR-ABL1*-позитивным В-ОЛЛ не оценивали.

Примечательно, что у 3 пациентов с *BCR-ABL1*-негативным ОЛЛ молекулярные нарушения обнаружены одновременно в 2 сигнальных каскадах RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT: гиперэкспрессия *CRLF2*, мутации *NRAS* (Q61H) и *JAK2* (D873N); гиперэкспрессия *CRLF2* и мутация *KRAS* (G12V); сочетание мутаций в генах *KRAS* (G12D) и *JAK2* (L892V).

Таким образом, общее число больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ, у которых определяется активация сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK (вследствие наличия мутаций в генах *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*) и/или JAK/STAT (вследствие наличия мутаций гена *JAK2* или гиперэкспрессии *CRLF2*), составляет 23 (24,7%). У больных *BCR-ABL1*-позитивным ОЛЛ не выявлено ни одной из анализируемых мутаций, в связи с чем мы не оценивали их биологическое и клиническое значение.

Корреляции с клинико-лабораторными характеристиками (возраст, пол, инициальный лейкоцитоз выше $30 \times 10^9/\text{л}$, активность лактатдегидрогеназы – ЛДГ > 750 Ед/л, спленомегалия, нейролейкемия) в зависимости от обнаружения активирующих мутаций в генах *NRAS*, *KRAS*, *JAK2* и *FLT3* сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT у больных *BCR-ABL1*-негативным ОЛЛ не установлено. Также не наблюдалось взаимосвязи между наличием активирующих мутаций и группой риска (**табл. 2**).

Эффективность лечения проанализирована у всех 93 больных В-клеточным *BCR-ABL1*-негативным ОЛЛ и представлена в **табл. 3**. Статистически значимых различий между 2 группами не наблюдалось. Из группы больных без мутаций трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) выполнена 10 (14,3%) пациентам, из них 2 больным во второй ремиссии заболевания, и 1 больному выполнена трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Медиана времени до ТГСК в первой ремиссии заболевания составила 9 (6,8–12,1) мес. Из группы с мутациями алло-ТГСК выполнена 2 (8,6%) больным, одному из которых во второй ремиссии заболевания. Ауто-ТГСК в группе лиц с мутациями не проводилась.

Долгосрочные результаты терапии (5-летние показатели ОВ, БРВ и ВРР) у больных *BCR-ABL1*-негативными В-ОЛЛ не имели статистически значимых различий в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в генах *NRAS*, *KRAS*, *JAK2* и *FLT3*. ОВ больных с мутациями ($n=23$) составила 64,8%, а без мутаций ($n=70$) – 65,3% ($p=0,721$); **рис. 2, а (см. на цветной вклейке)**. БРВ больных с мутациями ($n=19$) составила 62,7%, а без мутаций ($n=60$) – 60,4% ($p=0,48$); **рис. 2, б (см. на цветной вклейке)**. В группе больных с мутациями в генах *NRAS*, *KRAS*, *JAK2* и *FLT3* наблюдался один очень поздний рецидив через 57 мес, в группе без мутаций – 2, через 70 и 54 мес. ВРР 29,7 и 35,5% соответственно ($p=0,223$); **рис. 2, в (см. на цветной вклейке)**.

Исследование клиренса МОБ методом многоцветной проточной цитофлуориметрии выполнено 62 пациентам с *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ, среди которых 14 (22,5%) больных с активирующими мутациями в генах *NRAS*, *KRAS*, *JAK2* и *FLT3*, остальные 48 (77,5%) без мутаций. Не показано статистически значимых отличий в скорости достижения МОБ-негативного статуса между больными с активирующими мутациями в генах *NRAS*, *KRAS*, *JAK2* и *FLT3* и без мутаций на 70, 133 и 190-й день протокола (**рис. 3, а, см. на цветной вклейке**). Значения МОБ на 133-й день терапии

Таблица 2. Исходные демографические и клинико-лабораторные показатели у пациентов с активирующими мутациями генов NRAS, KRAS, JAK2 и FLT3 и без мутаций (WT)

Показатель	BCR-ABL1-негативный В-ОЛЛ		
	WT, n (%)	Мутации генов NRAS, KRAS, JAK2 и FLT3, n (%)	p
Число пациентов	70 (75,3)	23 (24,7)	
Возраст			
≤30 лет	29 (41)	12 (52)	0,368
>30 лет	41 (59)	11 (48)	
Возраст, медиана, (минимум-максимум)	32,5 (19–59)	27 (17–56)	0,050
Мужчины	33(47)	11(48)	0,95
Женщины	37(53)	12(52)	5
Инициальный лейкоцитоз			
>30×10 ⁹ /л	13 (18,5)	5 (22)	0,765
ИФТ-вариант острого лейкоза			
Ранний пре-В (В1)	16 (23)	2 (8,75)	0,131
Общий В (ВII)	42 (60)	18 (78)	
Пре-В (ВIII)	10 (14)	1 (4,5)	
Смешанный (В/миелоидный)	2 (3)	2 (8,75)	
Гепатомегалия	42/64 (66)	15/22 (68)	0,827
Спленомегалия	48/66 (73)	17/22 (77)	0,675
Нейролейкемия	7/66 (11)	3/21 (14)	0,698
Образование переднего средостения	3/67 (4,4)	1/21 (4,8)	0,99
Повышение активности ЛДГ>750 Ед/л	36/65 (55)	11/22 (50)	0,662
Экспрессия CD34	60/69 (87)	17/20 (85)	0,727
Экспрессия CD13	24/69 (35)	8/20 (40)	0,669
Экспрессия CD33	20/69 (29)	6/20 (30)	0,930
Экспрессия 2 миелоидных маркеров CD13, CD33	13/69 (19)	3/20 (15)	0,99
Экспрессия CD117	1/69 (1,45)	1/20 (5)	0,4
Экспрессия CD15	8/69 (11,6)	2/20 (10)	0,99
Экспрессия CD NG2	6/69 (8,7)	0/20	0,33
Экспрессия CD56	6/69 (8,7)	3/20 (15)	0,414
Экспрессия CD11c	0/69 (0)	1/20 (5)	0,224
Экспрессия CD2	1/69 (1,45)	2/20 (10)	0,125
Экспрессия CD7	1/69 (1,45)	0/20	0,99
Исходная группа риска по ОЛЛ-2009			
Стандартная (n=33)	23 (33)	10 (43)	0,356
Высокая (n=60)	47 (67)	13 (57)	
Нормальный кариотип	23 (33)	9 (39)	0,279
Нет митозов	13 (18,5)	1 (4,5)	
Цитогенетические аберрации	34 (48,5)	13 (56,5)	
Структурные цитогенетические аберрации			
Транслокация с вовлечением региона 11q23	8 (11,4)	0	0,193
Транслокация с вовлечением региона 11q23 в составе комплексного кариотипа	2 (2,9)	0	0,99
t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX	2 (2,9)	0	0,99
CDKN2A/9p21	2 (2,9)	3 (13)	0,094
iAMP21	1 (1,45)	0	0,99
Транслокация с вовлечением локуса гена ETV6/12p13	2 (2,9)	0	0,99
Транслокация с вовлечением локуса гена IGH/14q32	1 (1,45)	0	0,99
Делеция TP53/17p13	0	1 (4,35)	0,247

Таблица 2. Исходные демографические и клинико-лабораторные показатели у пациентов с активирующими мутациями генов *NRAS*, *KRAS*, *JAK2* и *FLT3* и без мутаций (WT) (Окончание)

Показатель	<i>BCR-ABL1</i> -негативный В-ОЛЛ		
	WT, n (%)	Мутации генов <i>NRAS</i> , <i>KRAS</i> , <i>JAK2</i> и <i>FLT3</i> , n (%)	<i>p</i>
Численные цитогенетические аберрации			
Гиперплоидия (более 46 хромосом)	7 (10)	5 (22)	0,162
Гипоплоидия (менее 46 хромосом)	4 (5,7)	0	0,568
Моносомия 7	4 (5,7)	0	0,568
Комплексные нарушения кариотипа	10 (14,3)	5 (22)	0,513
Делеция <i>IKZF1</i>	9/63 (14,2)	3/22 (13,6)	0,99

Примечание. WT – дикий тип гена.

Таблица 3. Эффективность лечения пациентов с наличием или отсутствием активации сигнальных путей (WT)

Показатель	<i>BCR-ABL1</i> -негативный В-ОЛЛ		
	WT, n (%)	Мутации генов <i>NRAS</i> , <i>KRAS</i> , <i>JAK2</i> и <i>FLT3</i> , n (%)	<i>p</i>
Число пациентов	70 (75,3)	23 (24,7)	
Ремиссия	60 (86)	19 (83)	0,718
После предфазы	11 (18)	0	
После I фазы индукции	43 (72)	18 (95,5)	0,07
После II фазы индукции	6 (10)	1 (4,5)	6
Рефрактерность	7 (10)	2 (8,7)	0,855
Летальность в индукции	3 (4,3)	2 (8,7)	0,416
Смерть в ремиссии	4 (5,7)	3 (13)	0,358
Число рецидивов	15 (21)	2 (8,7)	0,171

значимо различались между группами ($p=0,0437$), в группе с мутациями значения МОБ ниже, чем в группе больных без мутаций (рис. 3, б, см. на цветной вклейке). Вероятным объяснением этого феномена является чувствительность лимфобластов с мутациями в генах *RAS* к винкристину, который, согласно протоколам ОЛЛ-2009 и ОЛЛ-2016, назначают во время I фазы индукции и первой консолидации до 133-го дня.

Обсуждение

Активация сигнального каскада *RAS/RAF/MEK/ERK* имеет большое значение в патогенезе ОЛЛ и опосредована активирующими миссенс-мутациями, делециями и транслокациями большого числа генов, кодирующих ГТФазы, рецепторные тирозинкиназы, фосфатазы и убиквитинлигазы. Каскад активируется в ответ на множество внеклеточных стимулов и передает сигналы от клеточной поверхности к ядерным и цитоплазматическим мишеням, играя тем самым ключевую роль в различных клеточных процессах, в том числе в пролиферации, апоптозе и дифференцировке [45].

Цель исследования – оценить мутационный статус генов, кодирующих сигнальные молекулы описанного каскада, таких как рецепторная тирозинкиназа *FLT3* и компоненты этого пути белки *NRAS* и *KRAS*. Активирующие мутации в генах семейства *RAS*, кодирующих малые ГТФазы, описаны примерно у 15% больных В-ОЛЛ [9, 10].

В нашем исследовании активирующие мутации в генах *NRAS*, *KRAS*, *FLT3* сигнального каскада *RAS/RAF/MEK/ERK* обнаружены у 22 (23,6%) больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ. В общей сложности выявлено 23 мутации в генах *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*. У одного больного обнаружено одновременно 2 мутации в гене *KRAS*. Частота обнаружения мутаций

в генах *KRAS* и *NRAS* сопоставима 12,9% (12 из 93) и 9,7% (9 из 93) соответственно, что согласуется с данными исследований зарубежных авторов [9, 10]. В то же время нами не продемонстрировано корреляции между наличием мутаций в генах *KRAS* и *NRAS* и определенными цитогенетическими нарушениями.

Мутации в генах *RAS* в большинстве случаев (кроме одного) взаимоисключающие (т.е. детектировали одну мутацию либо в гене *KRAS*, либо в гене *NRAS*), что указывает на тот факт, что мутации, активирующие этот сигнальный путь, исключают необходимость повторного мутационного события, иными словами, для активации сигнального каскада достаточно одной мутации, что подчеркивает важность сигнального каскада *RAS/RAF/MEK/ERK* в патогенезе ОЛЛ.

У одного больного выявлены одновременно 2 мутации гена *KRAS* (в кодонах 13 и 61). Согласно литературным данным, множественные мутации в гене *KRAS* встречаются редко, около 2% случаев, и описаны в основном при колоректальном раке [46]. Это явление подчеркивает существование внутриопухольевой генетической гетерогенности.

Отсутствие активирующих мутаций генов *NRAS* и *KRAS* при *BCR-ABL1*-позитивном В-ОЛЛ подтверждает сомнению факт, что активация *RAS* представляет собой универсальный механизм, реализующийся в процессе канцерогенеза различных опухолей [47, 48]. Наш анализ 26 больных *BCR-ABL1*-позитивным ОЛЛ указывает на наличие определенного типа опухоли, в которой активирующие мутации генов *NRAS* и *KRAS* не найдены. Поэтому мы сделали вывод, что мутации кодонов 12, 13, 61, 117 и 146 генов *NRAS* и *KRAS* не участвуют либо крайне редко участвуют в патогенезе *BCR-ABL1*-позитивного ОЛЛ. Кроме того, с биологической

Мы не выявили корреляции наличия мутаций в генах сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT с клинико-лабораторными характеристиками, включающими возраст, пол, инициальный лейкоцитоз выше $30 \times 10^9/\text{л}$, ЛДГ > 750 Ед/л, спленомегалию, нейролейкемию.

Среди *BCR-ABL1*-негативных В-ОЛЛ ни у одного пациента с активирующими мутациями генов *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2* не обнаружено перестройки региона 11q23 (локуса гена *MLL*), t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1, интрахромосомной амплификации *iAMP21*. По данным литературы, мутации в генах *NRAS*, *KRAS* с высокой частотой детектируются при массивной гиперпloidии, т.е. в группе, характеризующейся благоприятным прогнозом, и в подгруппах высокого риска, в частности у больных с гиподиплоидным кариотипом [11, 13, 18, 55, 56]. Кроме этого, мутации генов *KRAS*, *NRAS* описаны у 6% больных *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ [57, 58]. В нашем исследовании гиперпloidный кариотип определялся у 25% больных с мутациями в генах *NRAS* и *KRAS*, что не противоречит данным литературы.

Мутации в генах сигнального каскада JAK/STAT, обуславливающие возможную чувствительность к ингибиторам JAK2, мутации в генах сигнального пути RAS/RAF/MEK/ERK и гиперэкспрессия белка CRLF2 являются диагностическими критериями *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ. Для диагностики этого варианта заболевания используют несколько подходов, к которым относятся:

- 1) выявление *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии генов;
- 2) выявление химерных генов с участием тирозинкиназ, цитокинов и цитокиновых рецепторов методом мультиплексной ПЦР, FISH или секвенированием нового поколения (транскриптомный анализ или таргетные панели);
- 3) секвенирование по Сэнгеру или таргетное секвенирование для мутаций генов сигнального каскада JAK/STAT и RAS/RAF/MEK/ERK (для наиболее часто встречающихся мутаций, таких как R683G в гене *JAK2*, применяют метод аллельной дискриминации в ходе ПЦР в реальном времени);
- 4) для идентификации делеций и вставок используют метод фрагментного анализа с последующим секвенированием по Сэнгеру;
- 5) экспрессию белка CRLF2 оценивают методом проточной цитофлуориметрии.

Таким образом, диагностические инструменты (фрагментный анализ, секвенирование по Сэнгеру, проточная цитофлуориметрия), использованные в ходе исследования, позволяют интегрировать данные о молекулярно-генетических нарушениях, происходящих на различных уровнях сигнальных каскадов JAK/STAT и RAS/RAF/MEK/ERK, и выделять генотипы, соответствующие *BCR-ABL1*-подобному варианту заболевания. Суммируя выявленные молекулярно-генетические нарушения, можно сделать вывод, что генотип у больных 14, 98, 80 и 44, представленных на рис. 4, соответствует *BCR-ABL1*-подобному ОЛЛ. Клиническое течение заболевания у указанных пациентов (за исключением 44-го), также носило рефрактерно-рецидивирующий характер, свойственный *BCR-ABL1*-подобному ОЛЛ [59].

Полученные нами результаты не показали какого-либо клинического значения активирующих мутаций генов *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2* у больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ при выполнении терапии по протоколам Российской исследовательской группы. В то же время создается впечатление о том, что в ряде случаев при сочетании нескольких молекулярных нарушений активирующие мутации ассоциированы с более агрессивным течением *BCR-ABL1*-негатив-

ного В-ОЛЛ. С другой стороны, на настоящее время это всего лишь единичные наблюдения, что затрудняет оценку клинической значимости этого феномена.

Клиническое значение активирующих мутаций пути RAS/RAF/MEK/ERK исследовано большим числом авторов, однако результаты исследований во многом противоречивы и, по-видимому, в основном зависят от выбранной подгруппы. В нескольких исследованиях, включая самый большой анализ, проведенный на больных педиатрической группы [60], не продемонстрировано какого-либо значительного влияния мутаций генов *RAS* на выживаемость больных, в то же время существуют сообщения, где мутации в генах *NRAS* и *KRAS* определены как независимый фактор неблагоприятного прогноза [61]. Влияние мутаций *FLT3* широко изучалось при остром миелоидном лейкозе, однако не совсем ясно, влияют ли мутации гена *FLT3* на эффективность терапии у пациентов с ОЛЛ [13, 18]. В нашем исследовании, учитывая небольшое число больных, у которых выявлены мутации *FLT3-ITD* (всего 2), для последующего анализа мы сгруппировали их с мутациями *NRAS* и *KRAS*, учитывая их принадлежность к сигнальному каскаду RAS/RAF/MEK/ERK.

Мутации в гене *JAK2* ввиду их малочисленности ($n=3$) также оценивали в одной группе с мутациями *NRAS* и *KRAS*. Из 3 больных с мутацией в гене *JAK2* только у одного течение заболевания носило рефрактерный характер, 2 других живы в ремиссии. Таким образом, на данном этапе нашего исследования сложно оценить прогностическую значимость мутаций в гене *JAK2*. В то же время в литературе представлены данные, которое абсолютно четко указывают на то, что наличие мутации в сигнальном каскаде JAK/STAT (в том числе в гене *JAK2*) независимо от профиля экспрессии генов или сопутствующих цитогенетических перестроек, позволяет выделять группу взрослых больных В-ОЛЛ, характеризующуюся плохими показателями ОВ и БРВ [62].

Заключение

Несмотря на то, что значимость активирующих мутаций генов *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *JAK2* у больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ при лечении по протоколам Российской исследовательской группы не обнаружена, знание о наличии или отсутствии описанных aberrаций позволяет лучше понимать биологию опухолевого процесса. Особое значение это приобретает в случае развития рецидива или рефрактерного течения заболевания. Обнаружение активирующих мутаций в генах сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT позволяет обоснованно выбрать соответствующий ИТК, который в сочетании с иммунотерапией биспецифическим антителом блинатумомабом увеличивают эффективность терапии в случае развития рецидива или рефрактерного течения заболевания [63–66].

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта №19-31-27001.

Благодарность участникам многоцентрового исследования ОЛЛ-2016: К.Д. Капланову (Волгоград), Т.С. Константиновой (Екатеринбург), Е.А. Борисенковой (Калуга), Е.С. Фокиной (Киров), О.С. Самойловой и М.Е. Гришунинной (Нижегород), О.Ю. Барановой и А.С. Антиповой (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»), Л.В. Гавриловой (Саранск), Е.Е. Зининой (Сургут), В.А. Лапину (Ярославль).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Moorman AV. New and emerging prognostic and predictive genetic biomarkers in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2016;101(4):407-16. doi: 10.3324/haematol.2015.141101
- Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2012; с. 289-342 [Programmnoe lechenie zabolovanij sistemy krovi: sbornik algoritmov diagnostiki i protokolov lecheniya zabolovanij sistemy krovi. In: VG Savchenko eds. Moscow: Praktika; 2012; p. 289-342 (In Russ.)].
- Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*. 2013;381(9881). doi: 10.1016/S0140-6736(12)62187-4
- Harrison CJ. Key pathways as therapeutic targets. *Blood*. 2011;118(11):2935-6. doi: 10.1182/blood-2011-07-362723
- Harrison CJ. Targeting signaling pathways in acute lymphoblastic leukemia: new insights. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013;2013:118-25. doi: 10.1182/asheducation-2013.1.118
- Herrmann C. Ras-effector interactions: after one decade. *Current Opinion in Structural Biology*. 2003;13(1):122-9. doi: 10.1016/s0959-440x(02)00007-6
- Arcaro A. The Small GTP-binding Protein Rac Promotes the Dissociation of Gelsolin from Actin Filaments in Neutrophils. *J Biol Chem*. 1998;273(2):805-13. doi: 10.1074/jbc.273.2.805
- Schubbert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in Developmental Disorders and Cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(4):295-308. doi: 10.1038/nrc2109
- Ward AF, Braun BS, Shannon KM. Targeting Oncogenic Ras Signaling in Hematologic Malignancies. *Blood*. 2012;120(17):3397-406. doi: 10.1182/blood-2012-05-378596
- Neri A, Knowles DM, Greco A, et al. Analysis of RAS oncogene mutations in human lymphoid malignancies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85(23):9268-72. doi: 10.1073/pnas.85.23.9268
- Zhang J, Mullighan CG, Harvey RC, et al. Key pathways are frequently mutated in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*. 2011;118(11):3080-7. doi: 10.1182/blood-2011-03-341412
- Paulsson K, Lilljebjörn H, Biloglav A, et al. The genomic landscape of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*. 2015;47(6):672-6. doi: 10.1038/ng.3301
- Holmfeldt L, Wei L, Diaz-Flores E, et al. The Genomic Landscape of Hypodiploid Acute Lymphoblastic Leukemia. *Nat Genet*. 2013;45(3):242-52. doi: 10.1038/ng.2532
- Andersson AK, Ma J, Wang J, et al. The Landscape of Somatic Mutations in Infant MLL-rearranged Acute Lymphoblastic Leukemias. *Nat Genet*. 2015;47(4):330-7. doi: 10.1038/ng.3230
- Ma X, Edmonson M, Yergeau D, et al. Rise and Fall of Subclones From Diagnosis to Relapse in Pediatric B-acute Lymphoblastic Leukaemia. *Nat Commun*. 2015;6:6604. doi: 10.1038/ncomms7604
- Oshima K, Khiabanian H, Silva-Almeida AC, et al. Mutational Landscape, Clonal Evolution Patterns, and Role of RAS Mutations in Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(40):11306-11. doi: 10.1073/pnas.1608420113
- Irving J, Matheson E, Minto L, et al. Ras Pathway Mutations Are Prevalent in Relapsed Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Confer Sensitivity to MEK Inhibition. *Blood*. 2014;124(23):3420-30. doi: 10.1182/blood-2014-04-531871
- Case M, Matheson E, Minto L, et al. Mutation of Genes Affecting the RAS Pathway Is Common in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Res*. 2008;68(16):6803-9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0101
- Irving J, Matheson E, Minto L, et al. Ras Pathway Mutations Are Prevalent in Relapsed Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Confer Sensitivity to MEK Inhibition. *Blood*. 2014;124(23):3420-30. doi: 10.1182/blood-2014-04-531871
- Smith CA, Fan G. The Saga of JAK2 Mutations and Translocations in Hematologic Disorders: Pathogenesis, Diagnostic and Therapeutic Prospects, and Revised World Health Organization Diagnostic Criteria for Myeloproliferative Neoplasms. *Hum Pathol*. 2008;39(6):795-810. doi: 10.1016/j.humpath.2008.02.004
- Mullighan CG, Zhang J, Harvey RC, et al. JAK Mutations in High-Risk Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(23):9414-8. doi: 10.1073/pnas.0811761106
- Bercovich D, Ganmore I, Scott LM, et al. Mutations of JAK2 in acute lymphoblastic leukaemias associated with Down's syndrome. *Lancet*. 2008;372(9648):1484-92. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61341-0
- Vainchenker W, Constantinescu SN. JAK/STAT signaling in hematological malignancies. *Oncogene*. 2013;32(21):2601-13. doi: 10.1038/ncr.2012.347
- Chen E, Staudt LM, Green AR. Janus kinase deregulation in leukemia and lymphoma. *Immunity*. 2012;36(4):529-41. doi: 10.1016/j.immuni.2012.03.017
- Li F, Guo HY, Wang M, et al. The Effects of R683S (G) Genetic Mutations on the JAK2 Activity, Structure and Stability. *Int J Biol Macromol*. 2013;60:186-95. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.05.029
- Herold T, Schneider S, Metzeler KH, et al. Adults With Philadelphia Chromosome-Like Acute Lymphoblastic Leukemia Frequently Have IGH-CRLF2 and JAK2 Mutations, Persistence of Minimal Residual Disease and Poor Prognosis. *Haematologica*. 2017;102(1):130-8. doi: 10.3324/haematol.2015.136366
- Harvey RC, Mullighan CG, Chen IM, et al. Rearrangement of CRLF2 Is Associated With Mutation of JAK Kinases, Alteration of IKZF1, Hispanic/Latino Ethnicity, and a Poor Outcome in Pediatric B-progenitor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*. 2010;115(26):5312-21. doi: 10.1182/blood-2009-09-245944
- Schmäh J, Fedders B, Panzer-Grümayer R, et al. Molecular Characterization of Acute Lymphoblastic Leukemia With High CRLF2 Gene Expression in Childhood. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64(10). doi: 10.1002/pbc.26539
- Russell LJ, Capasso M, Vater I, et al. Deregulated Expression of Cytokine Receptor Gene, CRLF2, Is Involved in Lymphoid Transformation in B-cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*. 2009;114(13):2688-98. doi: 10.1182/blood-2009-03-208397
- Choudhary C, Müller-Tidow C, Berdel WE, Serve H. Signal Transduction of Oncogenic FLT3. *Int J Hematol*. 2005;82(2):93-9. doi: 10.1532/IJH97.05090
- Hayakawa F, Towatari M, Kiyoi H, et al. Tandem-duplicated FLT3 Constitutively Activates STAT5 and MAP Kinase and Introduces Autonomous Cell Growth in IL-3-dependent Cell Lines. *Oncogene*. 2000;19(5):624-31. doi: 10.1038/sj.onc.1203354
- Nakao M, Yokota S, Iwai T, et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 1996;10(12):1911-8.
- Rombouts WJ, Blokland I, Löwenberg B, Ploemacher RE. Biological characteristics and prognosis of adult acute myeloid leukemia with internal tandem duplications in the FLT3 gene. *Leukemia*. 2000;14(4):675-83. doi: 10.1038/sj.leu.2401731
- Armstrong SA, Look AT. Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol*. 2005;23(26):6306-15. doi: 10.1200/JCO.2005.05.047
- Пискунова И.С., Обухова Т.Н., Паровичникова Е.Н. и др. Прогностическое значение делеции локуса гена CDKN2a/9p21 у взрослых пациентов с Ph-негативным острым лимфобластным лейкозом на терапии по протоколу ОЛЛ-2009. *Онкогематология*. 2017;12(3):17-24 [Piskunova IS, Obukhova TN, Parovichnikova EN, et al. CDKN2a/9p21 deletion is not a poor prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia patients treated according to protocol RALL-2009. *Oncogematologiya*. 2017;12(3):17-24 (In Russ.)]. doi: 10.17650/1818-8346-2017-12-3-17-24
- Пискунова И.С., Обухова Т.Н., Паровичникова Е.Н. и др. Структура и значение цитогенетических перестроек у взрослых больных Ph-негативным острым лимфобластным лейкозом. *Терапевтический архив*. 2018;90(7):30-7 [Piskunova IS, Obukhova TN, Parovichnikova EN, et al. Structure and importance of cytogenetic rearrangements in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia. *Therapeutic Archive*. 2018;90(7):30-7 (In Russ.)]. doi: 10.26442/terarkh201890730-37
- Башаева Г.А., Паровичникова Е.Н., Бидерман Б.В. и др. Роль мутаций гена IKZF1 при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе у взрослых больных, получающих лечение по протоколам российского многоцентрового исследования. *Гематология и трансфузиология*. 2018;63(1):16-30 [Bashaeva GA, Parovichnikova EN, Biderman BV, et al. The role of IKZF1 gene mutations in cellular acute lymphoblastic leukemia in adult patients receiving treatment under russian multicenter rese-

- arch protocols. *Gematologiya i Transfuziologiya*. 2018;63(1):16-30 (In Russ.). doi: 10.25837/HAT.2018.80..1.002
38. Паровичникова Е.Н., Клясова Г.А., Исаев В.Г. и др. Первые итоги терапии Ph-негативных острых лимфобластных лейкозов взрослых по протоколу Научно-исследовательской группы гематологических центров России ОЛЛ-2009. *Терапевтический архив*. 2011;83(7):7-11. [Parovichnikova EN, Kliasova GA, Isaev VG, et al. Pilot results of therapy of adult Ph-negative acute lymphoblastic leukemia according to the protocol of Research Group of Russian Hematological Centers ALL-2009. *Therapeutic Archive*. 2011;83(7):7-11 (In Russ.)].
 39. Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Соколов А.Н. и др. Промежуточные результаты по лечению острых Ph-негативных лимфобластных лейкозов у взрослых больных [итоги Российской исследовательской группы по лечению острых лимфобластных лейкозов (RALL)]. *Онкогематология*. 2014;9(3):6-15 [Parovichnikova EN, Troitskaya VV, Sokolov AN, et al. Interim results of the Ph-negative acute lymphoblastic leukemia treatment in adult patients [results of Russian research group of ALL treatment (RALL)]. *Oncohematology*. 2014;9(3):6-15 (In Russ.)]. doi: 10.17650/1818-8346-2014-9-3-6-15
 40. Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Соколов А.Н. и др. Острые В-лимфобластные лейкозы взрослых: выводы из российского проспективного многоцентрового исследования ОЛЛ-2009. *Терапевтический архив*. 2017;89(7):10-7 [Parovichnikova EN, Troitskaya VV, Sokolov AN, et al. Adult B-cell acute lymphoblastic leukemias: Conclusions of the Russian prospective multicenter study ALL-2009. Ostrye V-limfoblastnye лейкозы vzroslykh: vyvody iz rossiiskogo prospektivnogo mnogotsentrovogo issledovaniya OLL-2009. *Therapeutic Archive*. 2017;89(7):10-7 (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh2017897 10-17
 41. Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Российские многоцентровые исследования по лечению острых лейкозов. *Терапевтический архив*. 2019;91(7):4-13 [Parovichnikova EN, Savchenko VG. Russian multicenter clinical trials in acute leukemias. *Therapeutic Archive*. 2019;91(7):4-13 (In Russ.)]. doi: 10.26442/00403660.2019.07.000325
 42. Гаврилина О.А., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В. и др. Результаты ретроспективного многоцентрового исследования терапии больных Ph-позитивным острым лимфобластным лейкозом по протоколам российской исследовательской группы. *Гематология и трансфузиология*. 2017;62(4):172-80 [Gavrilina OA, Parovichnikova EN, Troitskaya VV, et al. The results of the retrospective multicentre study of the therapy of Ph-positive acute lymphoblastic leukemia according to the protocols of the Russian research group. *Gematologiya i Transfuziologiya*. 2017;62(4):172-80 (In Russ.)]. doi: 10.18821/0234-5730-2017-62-4-172-180
 43. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544
 44. Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 1999;41:95-8.
 45. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(11):761-74. doi: 10.1038/nrc3106
 46. Macedo MP, Andrade L, Coudry R, et al. Multiple Mutations in the *Kras* Gene in Colorectal Cancer: Review of the Literature With Two Case Reports. *Int J Colorectal Dis*. 2011;26(10):1241-8. doi: 10.1007/s00384-011-1238-0
 47. Barbacid M. Ras Genes. *Annu Rev Biochem*. 1987;56:779-827. doi: 10.1146/annurev.bi.56.070187.004023
 48. Bos JL. The ras gene family and human carcinogenesis. *Mutat Res*. 1988;195(3):255-71. doi: 10.1016/0165-1110(88)90004-8
 49. Зарубина К.И., Паровичникова Е.Н., Басхаева Г.А. и др. Трудности диагностики и терапии Ph-подобных острых лимфобластных лейкозов: описание 3 клинических случаев. *Терапевтический архив*. 2018;90(7):110-7 [Zarubina KI, Parovichnikova EN, Baskhaeva GA, et al. Diagnostics and Treatment Challenges of Ph-like Acute Lymphoblastic Leukemia: A Description of 3 Clinical Cases. *Therapeutic Archive*. 2018;90(7):110-7 (In Russ.)]. doi: 10.26442/terarkh2018907110-117
 50. Kobold S, Kılıç N, Scharlau J, et al. FLT3 – ITD Positive Acute Lymphocytic Leukemia, Does It Impact on Disease's Course? *Turk J Haematol*. 2010;27(2):133-4. doi: 10.5152/tjh.2010.18
 51. Harvey RC, Mullighan CG, Wang X, et al. Identification of Novel Cluster Groups in Pediatric High-Risk B-precursor Acute Lymphoblastic Leukemia With Gene Expression Profiling: Correlation With Genome-Wide DNA Copy Number Alterations, Clinical Characteristics, and Outcome. *Blood*. 2010;116(23):4874-84. doi: 10.1182/blood-2009-08-239681
 52. Den Boer ML, van Slegtenhorst M, De Menezes RX, et al. A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study. *Lancet Oncol*. 2009;10(2):125-34. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70339-5
 53. Roberts KG, Morin RD, Zhang J, et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell*. 2012;22(2):153-66. doi: 10.1016/j.ccr.2012.06.005
 54. Mullighan CG, Collins-Underwood JR, Phillips LA, et al. Rearrangement of CRLF2 in B-progenitor- and Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*. 2009;41(11):1243-6. doi: 10.1038/ng.469
 55. Paulsson K, Horvat A, Strömbeck B, et al. Mutations of FLT3, NRAS, KRAS, and PTPN11 Are Frequent and Possibly Mutually Exclusive in High Hyperdiploid Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. 2008;47(1):26-33. doi: 10.1002/gcc.20502
 56. Wiemels JL, Zhang Y, Chang J, et al. RAS Mutation Is Associated With Hyperdiploidy and Parental Characteristics in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Leukemia*. 2005;19(3):415-9. doi: 10.1038/sj.leu.2403641
 57. Reshmi SC, Harvey RC, Roberts KG, et al. Targetable kinase gene fusions in high-risk B-ALL: a study from the Children's Oncology Group. *Blood*. 2017;129(25):3352-61. doi: 10.1182/blood-2016-12-758979
 58. Roberts KG, Reshmi SC, Harvey RC, et al. Genomic and Outcome Analyses of Ph-like ALL in NCI Standard-Risk Patients: A Report From the Children's Oncology Group. *Blood*. 2018;132(8):815-24. doi: 10.1182/blood-2018-04-841676
 59. Roberts KG, Gu Z, Payne-Turner D, et al. High Frequency and Poor Outcome of Philadelphia Chromosome-Like Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults. *J Clin Oncol*. 2017;35(4):394-401. doi: 10.1200/JCO.2016.69.0073
 60. Perentesis JP, Bhatia S, Boyle E, et al. RAS oncogene mutations and outcome of therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2004;18(4):685-92. doi: 10.1038/sj.leu.2403272
 61. Driessen EM, Van Roon EHJ, Spijkers-Hagelstein JA, et al. Frequencies and prognostic impact of RAS mutations in MLL-rearranged acute lymphoblastic leukemia in infants. *Haematologica*. 2013;98(6):937-44. doi: 10.3324/haematol.2012.067983
 62. Messina M, Chiaretti S, Wang J, et al. Prognostic and therapeutic role of targetable lesions in B-lineage acute lymphoblastic leukemia without recurrent fusion genes. *Oncotarget*. 2016;7(12):13886-901. doi: 10.18632/oncotarget.7356
 63. Sokolov N, Parovichnikova EN, Troitskaya VV, et al. Blinatumomab + Tyrosine Kinase Inhibitors with No Chemotherapy in BCR-ABL-Positive or IKZF1-Deleted or FLT3-ITD-Positive Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia Patients: High Molecular Remission Rate and Toxicity Profile. *Blood*. 2017;130(Suppl. 1):3884. doi: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.3884.3884
 64. Зарубина К.И., Усикова Е.В., Абрамова А.В. и др. Достижение полной молекулярной ремиссии у больного острым лимфобластным лейкозом с мутацией FLT3-ITD при терапии сорафенибом и блинатумомабом. *Клин. онкогематология*. 2017;10(4):540-1 [Zarubina KI, Usikova EV, Abramova AV, et al. *Clin Oncohematology*. 2017;10(4):540-1 (In Russ.)]. doi: 10.26442/terarkh2018907110-117
 65. Sokolov A, Parovichnikova E, Troitskaya V, et al. Targetable blinatumomab + tyrosine kinase inhibitors treatment in relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia patients: clinical effectiveness and peripheral lymphocytes subpopulations kinetics. *Haematologica*. 2017;102(s2):354-5.
 66. Sokolov AN, Parovichnikova EN, Troitskaya VV, et al. BCR/ABL, IKZF deletions and FLT3-ITD as the targets for relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia treatment: Blinatumomab combined with Tyrosine kinase inhibitors and ATRA. *Cellular Therapy and Transplantation*. 2020;9(1):38-45. doi: 10.18620/ctt-1866-8836-2020-9-1-38-46

Поступила: 13.04.2020

Трансплантация фекальной микробиоты при реакции «трансплантат против хозяина» у детей и взрослых: методы, клинические эффекты, безопасность

О.В. Голошапов¹, А.Б. Чухловин¹, Е.А. Бакин¹, О.В. Станевич¹, Р.В. Клементьева¹, А.А. Шербаков¹, А.Н. Швецов¹, М.А. Суворова², С.Н. Бондаренко¹, М.А. Кучер¹, А.Д. Кулагин¹, Л.С. Зубаровская¹, И.С. Моисеев¹

¹Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

²ООО «Эксплана», Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Цель. Оценка клинической эффективности, спектра побочных эффектов и динамики микрофлоры после трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ) у пациентов с кишечной формой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ).

Материалы и методы. Проспективное одноцентровое сравнительное исследование в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой включало 27 пациентов с кишечной формой РТПХ после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. ТФМ выполнена 19 пациентам, плацебо получали 8 человек. По оценочным шкалам изучены клинические эффекты и безопасность ТФМ у пациентов. Изменения состава фекальной микробиоты оценивали методом мультиплексной полимеразной цепной реакции.

Результаты. После ТФМ по сравнению с группой плацебо выявлены статистически значимо более высокие средние значения общей бактериальной массы ($p=0,00088$), *Bifidobacterium* spp. ($p=0,021$), *Escherichia coli* ($p=0,049$) и *Bacteroides fragilis* gr. ($p=0,000043$). При этом изменения в бактериальной массе наблюдались у пациентов с клиническим ответом ($p=0,0057$), а бактериальная масса у пациентов без полного ответа сопоставима с группой плацебо ($p=0,31$). Частичный ответ по тяжести РТПХ достигался быстрее в группе ТФМ, чем в группе плацебо (медиана 4 дня против 48 дней; $p=0,014$). Полный ответ наблюдался у 8 (42%), 14 (74%) и 16 (84%) больных через 30, 60 и 90 дней в группе ТФМ соответственно против 0%, 1 (13%) и 4 (50%) в группе принимавших плацебо. Частота и выраженность нежелательных явлений после ТФМ сопоставима с группой плацебо.

Заключение. ТФМ у пациентов с резистентными формами кишечной РТПХ сопровождается позитивной динамикой клинических проявлений наряду с восстановлением кишечной микробиоты по ряду маркерных бактерий. Метод мультиплексной полимеразной цепной реакции можно использовать для оценки приживления фекального трансплантата. ТФМ пациентам с резистентной формой кишечной РТПХ не сопровождается жизнеугрожающими побочными эффектами. Однако требуются дополнительные исследования для уточнения клинической эффективности ТФМ.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических клеток, аллогенная, реакция «трансплантат против хозяина», фекальная микробиота, трансплантация, методы, мультиплексная полимеразная цепная реакция, клиническая эффективность, побочные эффекты.

Для цитирования: Голошапов О.В., Чухловин А.Б., Бакин Е.А. и др. Трансплантация фекальной микробиоты при реакции «трансплантат против хозяина» у детей и взрослых: методы, клинические эффекты, безопасность. *Терапевтический архив.* 2020; 92 (7): 43–54. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000773

Fecal microbiota transplantation for graft-versus-host disease in children and adults: methods, clinical effects, safety

O.V. Goloshchapov¹, A.B. Chukhlovina¹, E.A. Bakina¹, O.V. Stanevich¹, R.V. Klementeva¹, A.A. Shcherbakov¹, A.N. Shvetsov¹, M.A. Suvorova², S.N. Bondarenko¹, M.A. Kucher¹, A.D. Kulagin¹, L.S. Zubarovskaya¹, I.S. Moiseev¹

¹Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

²The Explana Research Laboratory, Saint-Petersburg, Russia

Aim. Was to evaluate clinical efficacy, adverse events and changes in the gut microbiome after fecal microbiota transplantation (FMT) in patients with gastrointestinal (GI) form of graft-versus-host disease (GVHD).

Materials and methods. The prospective single-center study in R.M. Gorbacheva institute included 27 patients with GI GVHD after allogeneic stem cell transplantation. 19 patients received FMT, 8 patients received placebo. Clinical scales for GI autoimmune diseases were used to evaluate response. Microbiome alterations were assessed with multiplex PCR.

Results. After FMT higher overall bacterial mass ($p=0.00088$), higher bacterial numbers of *Bifidobacterium* spp. ($p=0.021$), *Escherichia coli* ($p=0.049$) and *Bacteroides fragilis* gr. ($p=0.000043$) compared to placebo group. Also higher bacterial mass was observed in patients with clinical response ($p=0.0057$). The bacterial mass after procedure in non-responders was compared to the placebo group ($p=0.31$). Partial response of GVHD was achieved faster in the FMT group compared to placebo (median 4 days vs 48 days, $p=0.014$). Complete response was observed in 8 (42%), 14 (74%) and 16 (84%) at 30, 60 and 90 days respectively, while in the placebo group only 0%, 1 (13%) and 4 (50%) achieved complete response at the same time points. The incidence and severity of adverse events was comparable between FMT and the placebo group.

Conclusion. FMT in patients with refractory GI GVHD was associated with favorable clinical outcomes and recovery in certain marker bacterial populations. Multiplex PCR can be used to assess an engraftment of a donor microbiota. FMT in GI GVHD was not associated with life-threatening adverse events, but further studies are required to validate clinical efficacy.

Keywords: allogeneic stem cell transplantation, graft-versus host disease, fecal microbiota transplantation, multiplex PCR, methods, clinical efficacy, adverse events.

For citation: Goloshchapov O.V., Chukhlovina A.B., Bakina E.A., et al. Fecal microbiota transplantation for graft-versus-host disease in children and adults: methods, clinical effects, safety. *Therapeutic Archive.* 2020; 92 (7): 43–54. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000773

алло-ТГСК – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
ВАШ – визуальная аналоговая шкала
ГКС – глюкокортикостероидные гормоны
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
КФМ – капсулы с фекальной микробиотой
НИЗ – назоинтестинальный зонд
НО – нет ответа
ОБМ – общая бактериальная масса
ПО – полный ответ
ПЦР – полимеразная цепная реакция

РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»
ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
ТФМ – трансплантация фекальной микробиоты
УПМ – условно-патогенные микроорганизмы
ФГДС – фиброгастродуоденоскопия
ФКС – фиброколоноскопия
ФМ – фекальная микробиота
ФТ – фекальный трансплантат
ЧО – частичный ответ
СТСАЕ (Common Terminology Criteria for Adverse Events) – шкала общих терминологических критериев неблагоприятных событий

Введение

Совершенство микроорганизмов (микробиота) кишечника является существенной и необходимой частью общей микробной популяции организма человека, насчитывающей более 500 видов микроорганизмов общей массой 2–3 кг. Многие из них (главным образом анаэробные бактерии) синтезируют метаболически активные соединения, необходимые для пищевого баланса организма [1, 2]. За последнее десятилетие проведены обширные исследования состава кишечной микробиоты и коррекции ее состава путем диеты и назначения бактерий-пробиотиков при ряде заболеваний, где показано наличие кишечного дисбиоза [3]. Тем не менее рандомизированные исследования не показали преимуществ назначения пробиотических микроорганизмов у пациентов в критическом состоянии, что требует поиска альтернативных подходов к коррекции микробиоты [4]. Микробные и вирусные антигены кишечной микробиоты проникают в регионарные кровеносные сосуды и лимфоузлы, вызывая ре-

акции врожденного (неспецифического) иммунитета, а также адаптивный В- и Т-клеточный иммунный ответ, т.е. являются ключевым фактором нормального созревания и функционирования иммунной системы, особенно в детском возрасте [5].

Многие кишечные патогены можно выявлять классическими бактериологическими методами, например, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Enterococcus* и др. Однако более полная оценка состава кишечной микробиоты может быть проведена с применением молекулярно-биологических методов – геноспецифической полимеразной цепной реакции (ПЦР), а также с помощью секвенирования следующего поколения (NGS) 16S рибосомальной ДНК, позволяющего оценить всю совокупность кишечного микробиома [6, 7]. Из этих данных можно определить качественные и количественные изменения состава кишечной микробиоты. Среди множества клинических ситуаций с нарушением состава и функции кишечной микробиоты особого внимания заслуживают больные онкологического профиля после интенсивной цитостатической терапии и в раннем периоде после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) с тяжелыми иммунологическими осложнениями в виде стероид-рефрактерной реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [8]. У этих пациентов отмечается крайне неблагоприятный прогноз из-за сочетания выраженного иммунодефицита и рецидивирующих антибиотикорезистентных инфекций. На фоне клеточного иммунодефицита после интенсивной химиотерапии и антибактериальной терапии происходит снижение биологического разнообразия анаэробных бактерий кишечника (*Clostridia* и др.), появление кишечных патогенов и их токсичных метаболитов в кровотоке [8]. Прямое и опосредованное действие цитостатической терапии (через активацию системы цитокинов) в совокупности приводит к сужению биоразнообразия микробиоты, развитию системного воспалительного ответа организма, что модифицирует и утяжеляет состояние пациентов, в том числе при РТПХ, тяжелой септицемии, являясь причиной более высокой ранней летальности [9]. Таким образом, восстановление биоразнообразия и реколонизация кишечного микробиома являются важной задачей профилактики и лечения жизнеугрожающих осложнений у иммунокомпрометированных пациентов. Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) рассматривается в качестве одного из приемлемых методов реколонизации кишечника. Она впервые выполнена в 1958 г. при тяжелой кишечной инфекции, ассоциированной с *Clostridium difficile* [10]. В России первое сообщение о ТФМ у взрослых опубликовано в 2016 г. [11], у детей – в

Сведения об авторах:

Чухловин Алексей Борисович – д.м.н., проф., зав. лаб. трансплантологии НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0001-9703-4378

Бакин Евгений Александрович – к.т.н., ст. науч. сотр. отд. онкологии, гематологии и трансплантологии для подростков и взрослых НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0002-5694-4348

Станевич Оксана Владимировна – мл. науч. сотр. отд. клинической онкологии, врач-инфекционист НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0002-6894-6121

Клементьева Руслана Викторовна – врач анестезиолог-реаниматолог ОРИТ №3 НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0001-5493-4106

Шербаков Александр Александрович – врач анестезиолог-реаниматолог ОРИТ №3 НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0003-4522-4465

Швецов Александр Николаевич – зав. хирургическим блоком НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0001-7173-7673

Суворова Мария Александровна – к.б.н., ген. дир. Научно-исследовательской лаб. ООО «Эксплана». ORCID: 0000-0002-6292-0385

Бондаренко Сергей Николаевич – к.м.н., зам. дир. по лечебной работе НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0002-2446-8092

Кучер Максим Анатольевич – д.м.н., рук. отд. клинического питания, доц. каф. гематологии, трансфузиологии и трансплантологии фак-та последипломного образования НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0001-6114-3214

Кулагин Александр Дмитриевич – д.м.н., проф., и.о. дир. НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0002-9589-4136

Зубаровская Людмила Степановна – д.м.н., проф., рук. отд. детской онкологии, гематологии и трансплантологии НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0003-2594-7703

Моисеев Иван Сергеевич – д.м.н., зам. дир. НИИ ДОГИТ. ORCID: 0000-0002-4332-0114

Контактная информация:

Голошапов Олег Валерьевич – зав. ОРИТ №3 НИИ ДОГИТ. Тел.: +7(921)979-29-13; e-mail: golocht@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-0736-1269

2017 г. [12]. По настоящее время в России опубликованы лишь единичные случаи ТФМ [11–16].

В связи с этим мы провели первое одноцентровое исследование ТФМ в России, которое позволило отработать протоколы ТФМ у взрослых и детей после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), оценить ее эффективность и безопасность по клиническому и лабораторным критериям.

Цель исследования – оценка клинической эффективности ТФМ у пациентов с кишечной стероид-резистентной формой РТПХ после алло-ТГСК, определение безопасности и спектра побочных эффектов ТФМ, оценка состава фекальной микробиоты (ФМ) после интенсивной цитостатической, антибактериальной терапии и алло-ТГСК, а также процессов реколонизации кишечной микробиоты после ТФМ у иммунокомпрометированных больных.

Материалы и методы

В период с 2017 по 2020 г. в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой выполнено одноцентровое проспективное исследование «Лечение детей и взрослых с воспалительными и инфекционными поражениями пищеварительного тракта после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток путем пересадки нормальной фекальной микробиоты человека» (разрешение локального этического комитета ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» от 30.01.2017 №192). Все исследуемые пациенты или их родители подписывали соответствующее информированное согласие. В исследование планировали включить 30 пациентов (20 в группу ТФМ и 10 в группу плацебо), однако 3 пациента прервали свое участие в эксперименте на ранних сроках после ТФМ/плацебо и исключены из анализа. В результате в анализ включены 27 пациентов в возрасте от 1 до 52 лет (медиана 25 лет).

Критерий включения в исследование – стероид-рефрактерная острая или хроническая РТПХ (overlap-синдром) с поражением кишечника и неудачей по крайней мере 2 предшествующих линий терапии. Критериев исключения из исследования нет, учитывая тяжесть патологии. Для подтверждения диагноза РТПХ кишечника во всех случаях выполнялась биопсия слизистой оболочки толстой кишки с последующим гистологическим исследованием. В основную группу включены 19 пациентов, в контрольную – 8 (табл. 1). Все пациенты, которым выполнена алло-ТГСК, находились в ремиссии основного заболевания.

Пациентам основной группы (группа ТФМ) проведена пересадка ФМ человека от здоровых доноров. Пациентам контрольной группы вместо фекального трансплантата (ФТ) во время диагностической гастроскопии вводили 5 мл 0,9% раствора NaCl или больные принимали замороженные капсулы-плацебо с 0,9% раствором NaCl. Антибактериальную профилактику, необходимую по протоколу для иммунокомпрометированных больных, исключали за 3 дня до и во время ТФМ/плацебо. Системную антибактериальную терапию в связи с локальной инфекцией или сепсисом до и на момент ТФМ получали 7 (37%) пациентов, после процедуры – 18 (95%), до и после плацебо – 7 (88%). Пациенты с доказанным вирусным (вирус герпеса 6-го типа и/или вирус Эпштейна–Барр) поражением кишечника в группе ТФМ – 11 (58%) и 8 (100%) в группе плацебо, получали терапию ганцикловиром в дозировке 10 мг/кг в сутки.

Медиана срока после алло-ТГСК до введения ФТ или плацебо составила 110 (37–909) и 56 (34–120) дней соответ-

ственно. Длительность диареи до ТФМ и плацебо достигала 44 (7–803) и 23 (13–34) сут соответственно. У 11 (58%) пациентов в основной группе и у 5 (63%) контрольной группы регистрировали кишечное кровотечение со снижением содержания гемоглобина и ежедневными трансфузиями эритроцитосодержащих сред. При сочетании кишечной формы РТПХ с инфекцией, ассоциированной с *C. difficile*, пациентам основной группы выполняли только ТФМ, пациентам контрольной группы планировали курс ванкомицина в течение 10 дней. Пациенты проходили клинический и лабораторный контроль в следующие дни исследования: до ТФМ/плацебо, Д+3, Д+8, Д+16, Д+30, Д+45, Д+60, Д+75, Д+90, Д+120 после ТФМ/плацебо. За день 0 принимали последний день введения ФТ или плацебо.

Лабораторные исследования

Пациентам выполнялся мониторинг клинического анализа крови, лейкоцитарной формулы, рутинных биохимических исследований крови, маркеров воспаления (прокальцитонин, С-реактивный белок). Количественные и качественные изменения общей бактериальной массы (ОБМ) и бактериального состава микроорганизмов ФМ оценивали методом ПЦР в режиме реального времени с помощью тест-системы «Колонофлор-16» (ООО «Альфа-лаб», Санкт-Петербург, Россия) согласно инструкции производителя. Токсины А и В *C. difficile* определяли в иммунохроматографическом тесте (Vedalab, Франция). Наличие вирусов группы герпеса в клетках слизистых оболочек и лейкоцитах крови тестировали методом ПЦР ДНК («Синтол», Россия).

Клиническая оценка

Клиническую оценку пациентов на протяжении всего периода наблюдения до Д+120 проводили по стандартным шкалам: тяжести острой РТПХ и хронической РТПХ (overlap-синдром) [17]; клинического ответа у пациентов с РТПХ на терапию [18]; Бристольская шкала оценки характера стула [19].

Пациенты или их родители вели дневник, где ежедневно оценивали жалобы и выраженность симптомов. Динамику клинических симптомов оценивали согласно шкале общих терминологических критериев неблагоприятных событий СТАЕ (Common Terminology Criteria for Adverse Events) Version 5.0 [20]: анорексия (1–5 баллов), тошнота (1–3 балла), кровотечение из нижних отделов желудочно-кишечного тракта – ЖКТ (1–5 баллов). Болевой синдром (боли в животе) оценивали по 10-балльной визуальной аналоговой шкале (ВАШ) [21, 22]. Регистрировали кратность, объем диареи и рвоты в сутки. Характер стула оценивали по Бристольской шкале от 1 до 7 баллов. В дни исследования: до ТФМ/плацебо, Д+3, Д+8, Д+16, Д+30, Д+45, Д+60, Д+75, Д+90, Д+120 использовали среднее значение всех показателей начиная с первого дня после предыдущей точки до исследуемого дня включительно.

Для корректной интерпретации результатов все пациенты после ТФМ поделены на 2 подгруппы – основная группа с полным ответом (ПО) – ТФМ-ПО и с частичным (ЧО) или без ответа (ТФМ-ЧО/НО). За полный клинический ответ принято 2 критерия: полный ответ по РТПХ кишечника (объем стула менее 10 мл/кг в сутки, отсутствие болевого синдрома, пареза кишечника и крови в стуле) и характер стула по Бристольской шкале 4 балла и ниже. За ЧО принимали ПО по РТПХ кишечника и характер стула по Бристольской шкале более 4 баллов. Отсутствие клинического эффекта определяли по отсутствию ПО по кишечной РТПХ (объем стула более 10 мл/кг в сутки).

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов

Параметр	Группа ТФМ	Группа плацебо
Всего пациентов, n (%)	19 (100)	8 (100)
Возраст, лет, медиана (диапазон)	22,4 (3–49)	26,7 (1–52)
Пол, м/ж, n (%)	10/9 (53/47)	3/5 (38/62)
Диагноз, n (%)		
Острый лимфобластный лейкоз	5 (26)	4 (50)
Острый миелоидный лейкоз	5 (26)	1 (13)
Миелодиспластический синдром	3 (16)	1 (13)
Неходжкинская лимфома	1 (5)	1 (13)
Лимфома Ходжкина	1 (5)	0 (0)
Множественная миелома	1 (5)	0 (0)
Хронический миелолейкоз	1 (5)	1 (13)
Наследственные заболевания	2 (10)	0 (0)
Режим кондиционирования, n (%)		
Флударабин + бусульфан	11 (58)	7 (88)
Флударабин + мелфалан	4 (21)	0 (0)
Флударабин + бендамустин	3 (16)	0 (0)
Флударабин + циклофосфамид	1 (5)	1 (13)
Вид ТГСК, n (%)		
Аллогенная неродственная	11 (58)	1 (13)
Аллогенная родственная	0 (0)	1 (13)
Гаплоидентичная	8 (42)	6 (74)
Профилактика РТПХ, n (%)		
Циклофосфамид + такролимус + микофенолата мофетил	11 (58)	4 (50)
Циклофосфамид + такролимус + сиролимус	2 (10)	3 (37)
Бендамустин + такролимус + микофенолата мофетил	3 (15)	0 (0)
Циклофосфамид + такролимус + иммуноглобулин анти тимоцитарный	2 (10)	1 (13)
Т-деплеция	1 (5)	0 (0)
Терапия РТПХ на момент ТФМ, n (%)		
ГКС + руксолитиниб	6 (32)	5 (63)
ГКС + сиролимус	2 (10)	0 (0)
ГКС + руксолитиниб + сиролимус	9 (47)	3 (37)
ГКС + руксолитиниб + этанерцепт + экстракорпоральный фотоферез + мезенхимальные стволовые клетки	2 (10)	0 (0)
РТПХ кишечника, n (%)		
Острая	15 (79)	8 (100)
Хроническая (overlap-синдром)	4 (21)	0 (0)
Тяжесть РТПХ кишечника, n (%)		
1–2-я степень	9 (47)	3 (38)
3–4-я степень	10 (53)	5 (62)

Примечание. ГКС – глюкокортикостероидные гормоны.

Регистрация побочных эффектов на ТФМ. Побочные эффекты регистрировали начиная с первого дня ТФМ/плацебо и в течение 8 сут после последнего приема/введения трансплантата/плацебо. Инфекционные осложнения регистрировали до Д+120. Использовалась шкала общих терминологических критериев неблагоприятных событий СТСАЕ Version 5.0 [20].

Условия проведения исследования

В стационарных условиях ТФМ проведена 14 (74%) пациентам основной группы [из них 9 (64%) в условиях отде-

ления реанимации], и 6 (75%) больным выполнено введение плацебо. Амбулаторно ТФМ получили 5 (26%) пациентов, у 2 (25%) вводили плацебо.

Протокол производства капсул с ФМ (КФМ). Стул донора собирали непосредственно в специализированной лаборатории. При помощи индивидуального блендера стул гомогенизировался с добавлением 10% глицерола и 50% стерильного сахарного сиропа. Материал на льду расфасовывался в твердые желатиновые капсулы Coni-Snap® Size 0 аппаратом ProFiller 1100. Капсулы расфасовывались в индивидуальные стерильные контейнеры с присвоенным им

бар-кодом и помещались в морозильную камеру при температуре -80°C не позднее чем через 1 мин после расфасовки. Общая масса 30 капсул составляла 22 г (курсовая доза на одну ТФМ).

Протокол введения ФТ инструментальными методами. Фиброколоноскопию (ФКС) или фиброгастроудоденоскопию (ФГДС)+ФКС и установку назоинтестинального зонда выполняли в условиях седации (пропофол 2 мг/кг). ФТ вводили через рабочий канал эндоскопа в просвет двенадцатиперстной кишки. При выполнении ФКС трансплантат вводили в слепую кишку. Введение ФТ методом ФГДС+ФКС проведено у 3 (16%) пациентов.

Протокол введения ФТ через назоинтестинальный зонд (НИЗ). НИЗ вводили с помощью гастроскопа по методу Сельдингера или устанавливали зонд под визуальным контролем гастроскопа. Терминальный конец зонда вводили за связку Трейца. Выбор метода введения ФТ зависел от тяжести состояния, возраста и комплаентности пациента. ТФМ и введение плацебо посредством НИЗ проведены у 3 (16%) и 4 (50%) больных соответственно.

Протокол хранения и транспортировки ФТ. Медиана срока хранения замороженного трансплантата (КФМ и нативный трансплантат) при температуре -80°C составил 19 (2–104) сут. Транспортировка осуществлялась в термоконтейнере с термоиндикатором. Нативный ФТ хранился при температуре 22°C . Срок хранения нативного ФТ составлял не более 6 ч от момента донации.

Протокол приема КФМ. Утром за 2 ч до приема капсул допускался легкий завтрак. Пациенты принимали желатиновые капсулы с замороженной ФМ, запивая небольшим количеством воды. ТФМ посредством приема капсул проведена у 13 (68%) пациентов основной группы, и капсулы-плацебо получили 4 (50%) больных контрольной группы.

Выбор объема, дозы и кратности вводимого ФТ

Объем вводимого трансплантата зависел от возраста и массы тела пациента. Медиана разовой дозы для введения нативного трансплантата через верхние отделы ЖКТ составила 2,2 (0,8–4,8) мл/кг, в нижние отделы ЖКТ – 5,9 (3,0–9,0) мл/кг. Количество введенных нативного ФТ посредством ФГДС+ФКС – 2 (2–3), посредством НИЗ – 3 (2–5). Во всех случаях применения нативного материала трансплантат вводили через день. Курсовая доза ФТ в капсулах составила 0,41 (0,29–1,67) г/кг (30 капсул на курс в независимости от возраста и массы тела пациента). Количество эпизодов приема КФМ варьировало от 2 до 10, медиана – 3,6. Пациенты принимали ежедневно по 10 (3–15) капсул в сутки. Протокол создания нативного ФТ, алгоритм обследования доноров и пациентов представлены нами ранее [12].

Доноры ФМ. Донорами ФМ являлись 9 здоровых добровольцев (мужчины – 4, женщины – 5), подписавшие информированное согласие. Диета доноров без особенностей, так называемая европейская [23]. Донорами проведено 10 донаций кала в условиях лаборатории. В 4 (21%) случаях донацию ФТ осуществляли родственные доноры ГСК (мать – 1, отец – 2, брат – 1). Неродственная ТФМ проведена 15 (79%) пациентам.

Статистическая обработка данных

Все клинические и лабораторные данные, полученные при обследовании пациентов, проанализированы с использованием библиотек статистической обработки информации языка R 3.6.2 в среде Rstudio 1.2.5033. Описательные харак-

теристики включали пропорции, медианы, диапазоны значений. Количественные данные сравнивались методами непараметрической статистики: сравнение 2 групп производилось методом Манна–Уитни–Уилкоксона, 3 групп – методом Краскела–Уоллиса. Анализ времени достижения состояния (ПО/ЧО) осуществлялся методом Каплана–Мейера с применением пакета Survival [24]. Для межгруппового сравнения использован логранговский критерий. События смерти, имевшие место в ходе исследования, являлись конкурирующими рисками для событий ПО/ЧО. Однако в силу их немногочисленности (1 случай в группе ТФМ, 3 случая в группе плацебо), асимптотический тест Грея в данном случае неприменим, и моменты смерти учитывались как точки цензурирования. В силу ограниченного размера группы плацебо выбран порог значимости $p=0,1$. По результатам анализа оценивались минимальные/максимальные и медианные значения времени ответа. Визуализация производилась средствами пакетов ggplot2 [25] и ggpubr [26].

Результаты

Время наблюдения за пациентами после ТФМ/плацебо составило 495 (34–1356) и 437 (11–587) дней соответственно. В целом по всей группе больных без учета Бристольской шкалы как минимум ЧО на терапию РТПХ через 120 дней достигнут у 23 (85%) больных, в том числе у 18 (95%) и 5 (63%) в группах ТФМ и плацебо соответственно ($p=0,0646$). ПО получен у 16 (84%) больных после ТФМ и у 5 (63%) больных в группе плацебо ($p=0,3191$). Без достижения ответа на терапию умерли 1 (5%) и 3 (38%) в группе ТФМ и плацебо соответственно.

Имелась отчетливая тенденция к более быстрому достижению ответа на терапию в группе ТФМ (**рис. 1**). Медиана времени достижения ЧО и ПО после ТФМ составила 3 (1–45) и 34 (3–90) дня против 9 (2–56) и 75 (6–91) дней в контрольной. В группе ТФМ полный клинический ответ к Д+30 диагностировали у 8 (42%) больных, к Д+60 – у 14 (74%), к Д+90 и Д+120 – у 16 (84%). В группе плацебо к Д+30 ни у одного пациента не диагностирован полный клинический ответ, к Д+60 – только у 1 (13%) больного, Д+90 – у 4 (50%) и Д+120 – у 5 (63%). Стоит отметить, что, несмотря на обнаруженный эффект, численность группы плацебо (8 пациентов) оказалась недостаточной для формальной демонстрации статистической значимости в наблюдаемых различиях для случая ПО (**см. рис. 1**). При этом для ЧО межгрупповые различия выражены сильнее, и статистическая значимость продемонстрирована ($p=0,014$).

Тенденция к более высокому и быстрому ответу на терапию с включением ТФМ сохранялась и при использовании более жесткого критерия ответа с учетом Бристольской шкалы по оценке качества стула (**рис. 2**). При оценке клинического ответа на терапию РТПХ с учетом характера стула через 120 дней после ТФМ у 9 (47%) пациентов получен полный клинический ответ с оценкой стула по Бристольской шкале 4 балла и менее и 9 (47%) больных – ЧО с оценкой стула более 4 баллов. В группе плацебо к 120-му дню ПО и ЧО с учетом характера стула зарегистрированы у 1 (13%) и 4 (50%) больных соответственно.

В группе ТФМ полный клинический ответ с оценкой стула по Бристольской шкале 4 балла и менее наступил к Д+30 у 2 (11%) больных, к Д+60 – у 6 (32%), Д+90 – у 8 (42%). В контрольной группе полный клинический ответ с оценкой стула по Бристольской шкале 4 балла и менее к Д+30 не наступил ни у одного больного; к Д+60, Д+90, Д+120 ответ получен у 1 (13%) пациента. Медиана времени достижения

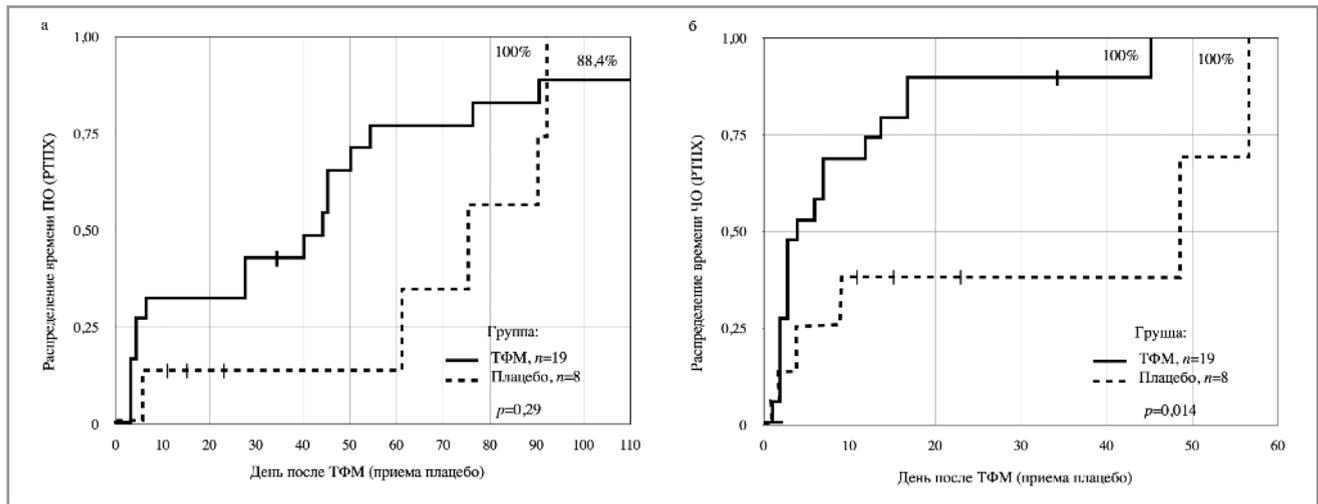


Рис. 1. Оценка клинического ответа на терапию РТПХ посредством ТФМ.

Примечание. Диаграммы Каплана–Мейера: оценка времени достижения клинического ответа терапии РТПХ после ТФМ (приема плацебо). По оси ординат отложена кумулятивная частота ПО (а) и ЧО (б). Цензурированные пациенты на графиках обозначают моменты выбывания пациентов из исследования по причине смерти.

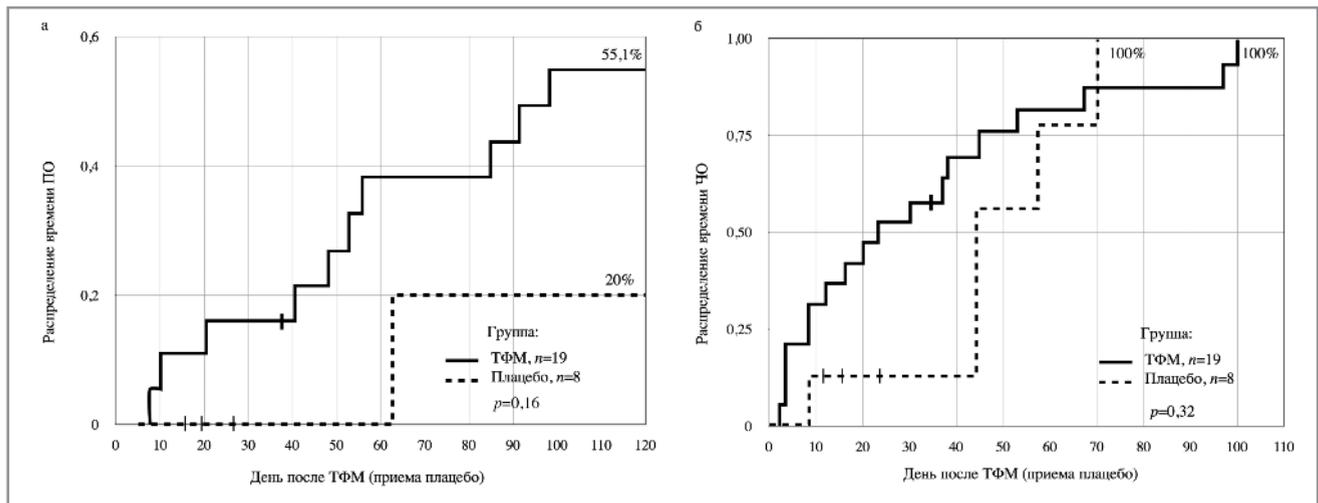


Рис. 2. Оценка клинического ответа на терапию РТПХ после ТФМ с учетом характера стула по Бристольской шкале.

Примечание. Диаграммы Каплана–Мейера: оценка времени достижения клинического ответа терапии РТПХ с учетом характера стула. По оси ординат – кумулятивная частота ПО (а) и ЧО (б) в различные сроки.

клинического ответа с учетом характера стула в группе ТФМ также меньше, чем в группе плацебо (см. рис. 2).

У пациентов в группе ТФМ регистрировали лучшую динамику уменьшения клинических симптомов при кишечной форме РТПХ (объем, кратность стула, тошнота, рвота, анорексия, примеси крови в стуле, боли в животе) по сравнению с больными в группе плацебо (рис. 3, а). Для количественного описания данного эффекта построены диаграммы размаха (горизонтальная черта и границы прямоугольника обозначают медиану, 1 и 3-й квартили соответственно), отражающие изменение того или иного показателя к Д+8 по сравнению с Д-0 (рис. 3, б). Для 4 показателей из 8 наблюдаются значимые улучшения, обеспечиваемые ТФМ (по уровню $p < 0,1$).

При сравнении клинического ответа с учетом характера стула группы ТФМ-ПО, ТФМ-ЧО/НО и группы плацебо (рис. 3, в) можно отметить, что динамика изменения объема, кратности, характера стула пациентов в группе ТФМ-

ЧО/НО до Д+30 сходна с группой ТФМ-ПО, а далее (Д+45–60) с пациентами из группы плацебо.

Результаты мультиплексной ПЦР микробиоты ФТ

По результатам мультиплексной ПЦР ДНК ФТ (система «Колонофлор-16»), ОБМ и другие показатели родственных и неродственных доноров ФМ сравнимы. Однако родственных доноров отличали высокие показатели условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) *E. coli* enteropathogenic 6×10^6 ($0/-1 \times 10^9$) генокопий/г (\log_{10} числа генокопий в образце ФМ) и *Enterobacter* spp. 1×10^8 ($1 \times 10^6/3 \times 10^8$) генокопий/г по сравнению с неродственными донорами, у которых эти микроорганизмы отсутствовали или находились в пределах допустимых значений.

Состав и динамика ФМ исследуемых пациентов

При сравнении средних значений микробных показателей ФМ в группах ТФМ и плацебо выявлены значительные

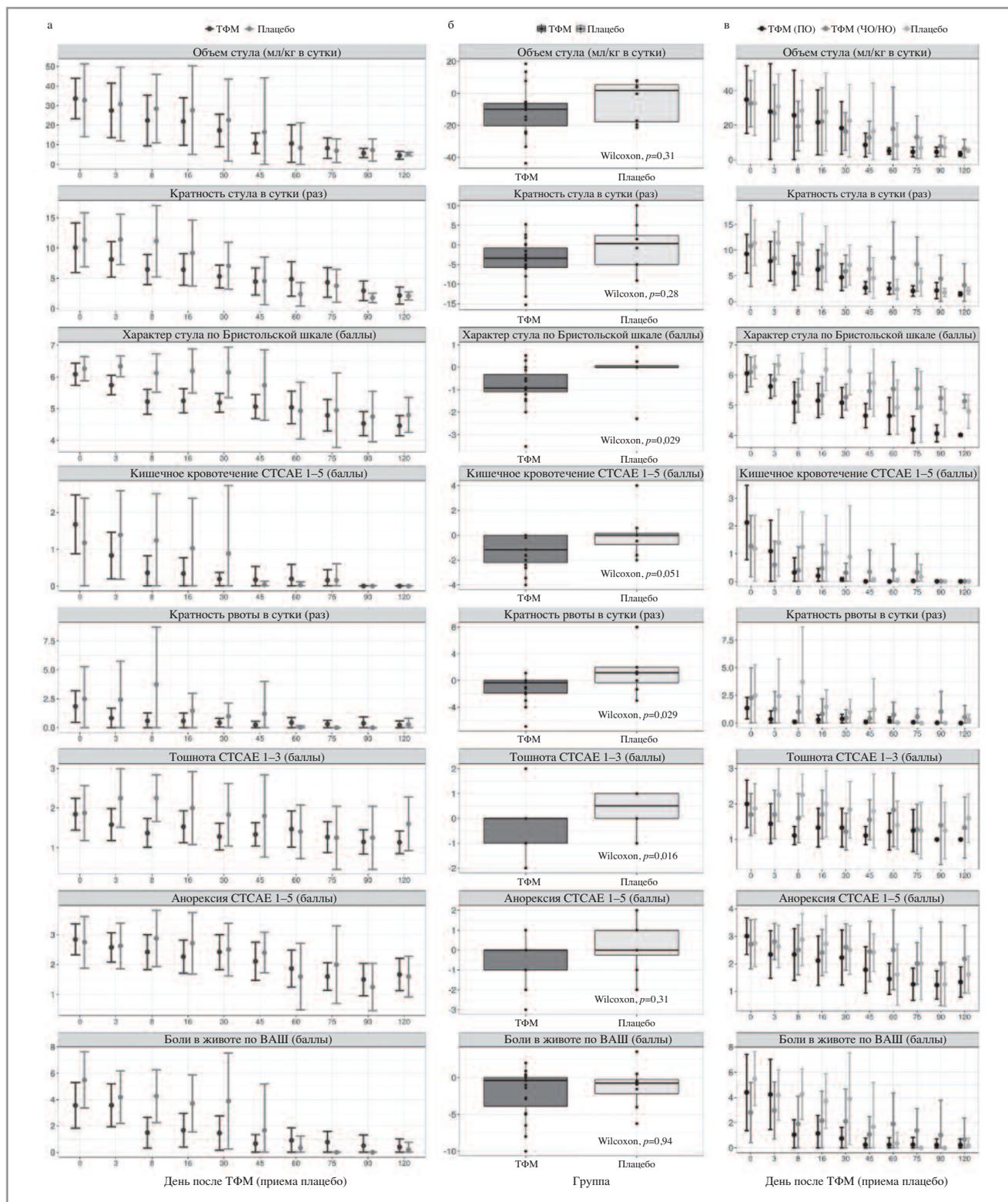


Рис. 3. Клинический ответ в группах ТФМ и плацебо (а, б), в группах ТФМ-ПО, ТФМ-ЧО/НО и плацебо (в).

Примечание. На временных диаграммах отмечены средние значения и границы 95% доверительного интервала для среднего, на диаграммах размаха – распределения для абсолютного изменения показателя к Д+8 относительно Д-0. Критерии CTCAE Version 5.0.

различия. Большинство основных показателей ФМ в группе ТФМ выше, чем в группе плацебо: ОБМ, *Bifidobacterium* spp., *E. coli*, *B. fragilis* gr., *Faecalibacterium prausnitzii* ($p<0,00088$), ($p<0,021$), ($p<0,049$), ($p<0,000043$) и ($p<0,6$) со-

ответственно. Динамика изменения ФМ в группах ТФМ и плацебо также существенно отличались: ОБМ ($p<0,045$), *Bifidobacterium* spp. ($p<0,31$), *E. coli* ($p<0,055$), *B. fragilis* gr. ($p<0,15$), *F. prausnitzii* ($p<0,15$).

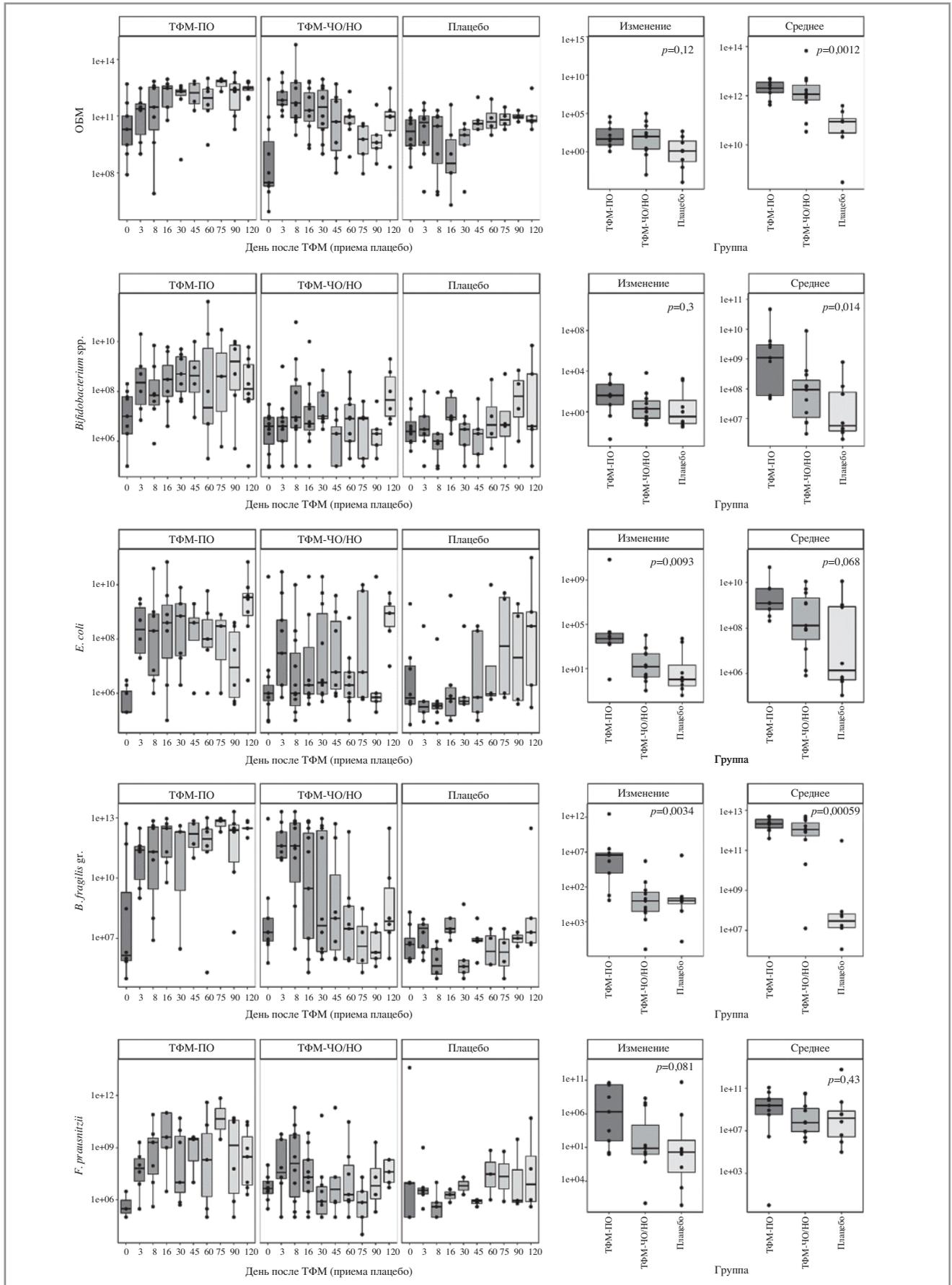


Рис. 4. Динамика основных групп микроорганизмов в группах ТФМ-ПО, ТФМ-ЧО/НО и плацебо.

Таблица 2. Клинические проявления со стороны ЖКТ и частота инфекционных осложнений после ТФМ и плацебо

Симптом/синдром	Группа ТФМ, n (%)	СТСАЕ	Связь, В/О	Группа плацебо, n (%)	СТСАЕ	Частота <i>p</i>	Тяжесть <i>p</i>
<i>Ранние (с 1 сут приема/введения ТФМ до 8 сут после последнего введения ФТ)</i>							
Тошнота	18 (95)	1 (1/3)	В	6 (75)	3 (1/3)	0,862	0,029
Рвота	8 (42)	2 (1/4)	В	6 (75)	3 (1/4)	0,165	0,456
Боли в животе	14 (74)	2 (1/3)	В	7 (88)	3 (2/4)	0,636	0,047
Недержание кала	15 (79)	2 (1/3)	В	7 (88)	2 (2/2)	0,636	0,237
Запор	1 (5)	2	О	0			
Парез кишечника	6 (32)	3 (2/4)	В	6 (75)	3 (2/4)	0,05	0,31
Метеоризм	16 (84)	2 (1/2)	О	7 (88)	2 (1/2)	0,784	0,5
Недомогание	13 (68)	2 (1/3)	О	7 (88)	3 (1/3)	0,381	0,246
Анорексия	18 (95)	3 (1/4)	В	6 (75)	3 (1/4)	1	0,897
Фебрильная температура	9 (47)	3 (1/3)	В	5 (63)	2 (1/2)	0,5	0,093
Бактериemia	1 (5)		В	1 (13)			
Пневмония	4 (21)	3 (2/4)	В	5 (63)	4 (2/4)	0,89	0,07
Сепсис	7 (37)	3 (3/4)	В	5 (63)	4 (3/4)	0,282	0,432
<i>Поздние (9–120 сут после последнего дня введения ТФМ)</i>							
Бактериemia	4 (21)		В	5 (63)			0,288
Пневмония	9 (47)	3 (2/4)	В	3 (38)	4 (2/4)	0,089	0,174
Сепсис	8 (42)	3 (3/4)	В	5 (63)	4 (3/5)	0,381	0,286

Примечание. Связь В/О – связь неблагоприятных событий с ТФМ: В – возможно, О – определено. Указана медиана степени выраженности симптомов за 1-ю неделю. В скобках указано минимальное и максимальное значение выраженности симптомов. Полужирным шрифтом отмечены статистически значимые отличия $p \leq 0,05$

Еще более значимые различия как по составу, так и по динамике изменения ФМ обнаружены при сравнении пациентов основной группы ТФМ-ПО, ТФМ-ЧО/НО с контрольной группой (рис. 4). Средние значения ОБМ, *Bifidobacterium* spp., *E. coli*, *B. fragilis* gr., *F. prausnitzii* статистически значимо отличались в исследуемых группах и показатели фиксировались выше в группе ТФМ-ПО: ($p < 0,0012$), ($p < 0,014$), ($p < 0,068$) ($p < 0,00059$), ($p < 0,00018$), ($p < 0,43$) соответственно. Найлены отличия и в динамике изменения ФМ в подгруппах ТФМ-ПО, ТФМ-ЧО/НО и контрольной: ОБМ ($p < 0,12$), *Bifidobacterium* spp. ($p < 0,3$), *E. coli* ($p < 0,0093$), *B. fragilis* gr. ($p < 0,0034$), *F. prausnitzii* ($p < 0,081$). При этом изменения в бактериальной массе наблюдались у пациентов с клиническим ответом ($p = 0,0057$), а бактериальная масса у пациентов без ПО сопоставима с группой плацебо ($p = 0,31$). В группе плацебо случаи инфекции, ассоциированной с *C. difficile*, не зарегистрированы. В группе ТФМ выявлено 3 случая клостридиальной инфекции до ТФМ. Клостридиальные токсины А и В отрицательны через 16, 30 и 45 дней после ТФМ.

Все пациенты перенесли ТФМ без жизнеугрожающих неблагоприятных явлений. Неблагоприятные события, вероятно, связанные с проведенной ТФМ, регистрировали у большинства пациентов в основной группе.

Достаточно проблематично отделить нежелательные явления после ТФМ от клинических проявлений РТПХ ЖКТ, однако частота симптомов со стороны гастроинтестинального тракта и инфекционных осложнений сравнима с группой плацебо (табл. 2). Более того, в группе ТФМ меньше пациентов с парезом кишечника – 6 (32%) против 6 (75%) в группе плацебо ($p = 0,05$). Тошнота и боли в области живота отличались меньшей интенсивностью и продолжительностью также в группе ТФМ ($p \leq 0,05$).

Изменения в биохимических показателях крови у пациентов в обеих группах статистически значимо не различались.

Различия в осложнениях инфекционного генеза (бактериemia, инфекции легких, сепсис) у пациентов после ТФМ и плацебо статистически незначимы. Сепсис в ранний период (до Д+9) – по 1 пациенту в группах после ТФМ и плацебо на Д+5 (*Klebsiella pneumoniae*) и Д+3 (*K. pneumoniae*) соответственно. Сепсис с бактериемией с Д+9 до Д+120 регистрировали у 4 (21%) пациентов после ТФМ в дни: Д+12 (*Serratia* spp.), +12 (*Chryseobacterium indologenes*), Д+16 (*Staphylococcus epidermidis*), Д+29 (*Pseudomonas* spp.). В группе плацебо в те же сроки сепсис отмечали у 4 (50%) больных в дни: Д+9 (*Pseudomonas* spp.), Д+15 (*K. pneumoniae*), Д+21 (*Acinetobacter* spp.), Д+31 (*S. epidermidis*). Сепсис у 1 пациента в группе ТФМ и у 3 больных в группе плацебо стали причиной смерти. Летальность в основной и контрольной группах составила 5% (1 пациент) и 38% (3 пациента) соответственно. Пациент в группе ТФМ умер на Д+34, сепсис *K. pneumoniae* диагностирован на Д+5. В контрольной группе причиной смерти значился сепсис на Д+11 (*Pseudomonas* spp.), Д+15 (*K. pneumoniae*) и Д+23 (*Acinetobacter* spp.).

Обсуждение

ТФМ как метод восстановления нормальной микробиоты широко применяется у пациентов с колитами различного генеза, в особенности – с рекуррентными кишечными инфекциями, в частности – ассоциированными с *C. difficile* [27]. Проведение ТФМ после трансплантации гемопоэтических клеток имеет цель прежде всего восстановления микробиома кишечника, нарушенного при массивной антибио-

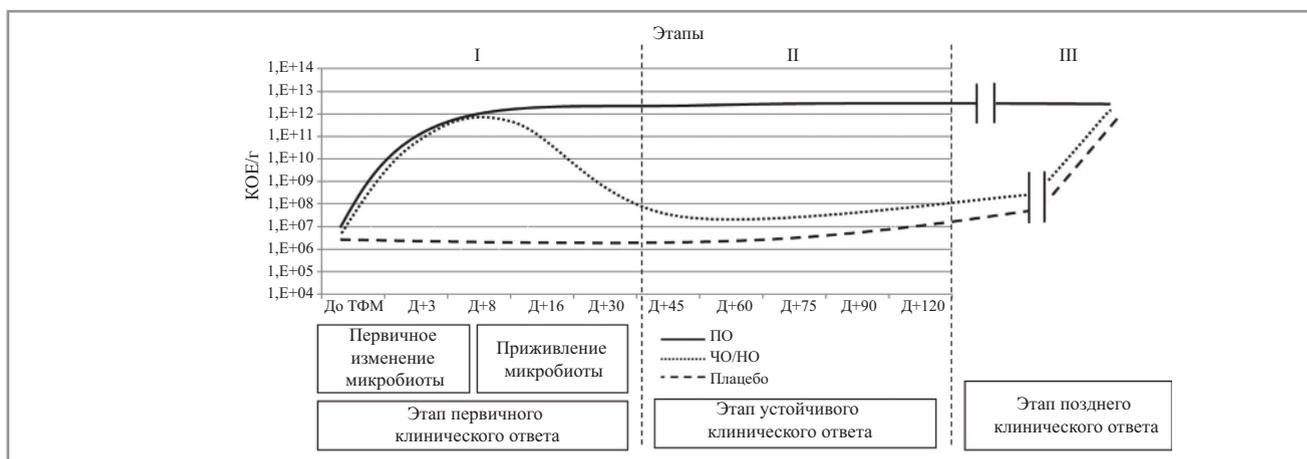


Рис. 5. Связь приживания и динамики микробиоты с клиническими ответами*.

*На основании динамики основных групп микроорганизмов: ОБМ, *Bifidobacterium* spp., *B. fragilis* gr., *F. prausnitzii* (см. рис. 4).

тикотерапии в ранние сроки после ТГСК [28]. Другой задачей авторы считают лечение тяжелых клинических форм острой и хронической кишечной РТПХ, где пока не проводилось больших клинических исследований.

В связи с этим мы провели пилотное исследование безопасности и эффективности ТФМ при стероид-резистентных формах РТПХ.

Как видно из результатов, ПО и частичные клинические ответы у пациентов после ТФМ отмечались раньше и чаще, нежели у больных в группе плацебо. Эти различия, как мы полагаем, напрямую связаны со значительными изменениями в количественном и качественном составе основных групп микроорганизмов ФМ у пациентов в ранние сроки после ТФМ. Наиболее длительные и быстроразвивающиеся изменения после ТФМ сохранялись по показателям: ОБМ, *Bifidobacterium* spp., *E. coli*, *B. fragilis* gr., *F. prausnitzii*, что позволяет предложить понятие «приживание» микроорганизмов в группе ТФМ-ПО или «неприживание» – в группе ТФМ-ЧО/НО. Это подтверждается рядом работ, показывающих восстановление кишечной микробиоты после ТФМ. Так, первичным результатом ТФМ у пациентов с кишечной патологией считаются увеличение биоразнообразия кишечной микробиоты и приближение ее состава к донорскому, как показывает анализ профиля 16S rRNA с помощью методики глубокого секвенирования нового поколения (NGS) [29]. Мы также недавно показали, что ТФМ от здоровых доноров здоровым реципиентам сопровождается глубокими и долгосрочными изменениями таксономического состава микробиоты, указывающими на колонизацию их кишечника донорскими бактериями [30].

На этом основании мы полагаем, что период наблюдения за эффективностью после ТФМ можно разделить на несколько этапов по срокам после трансплантации, приживлению ФМ и времени наступления клинических эффектов (рис. 5).

I – этап первичных (ранних) клинических эффектов (с Д-0 до Д+30 после ТФМ)

С Д+0 до Д+8 после ТФМ – время первичного (временного, транзитного) изменения микробиоты и временных клинических эффектов у большинства пациентов после ТФМ. На данном этапе регистрируется большинство побочных явлений. Клинически этап характеризуется изменением аппетита (чаще в сторону улучшения), диспептическими явлениями (возможны тошнота, рвота), изменяется характер

стула (чаще в сторону менее оформленного), появляется характерный каловый запах от стула, возможны урчание и спастические боли в животе (неинтенсивные, не требующие применения медикаментов). Субфебрильная, редко фебрильная температура тела после ТФМ возможна даже у здоровых реципиентов ФТ [30].

С Д+8 до Д+30 – приживание микробиоты. Изменения микробиоты в группе ТФМ-ПО носят стабильный характер. Учитывая значительные изменения состава микробиоты у пациентов в основной группе в эти сроки после ТФМ, можно предполагать, что это время «приживания ФТ» – устойчивые изменения качественного и количественного состава основных групп микроорганизмов после ТФМ. Определенные группы микроорганизмов, такие как *B. fragilis* gr., *F. prausnitzii*, на наш взгляд, можно использовать как маркеры приживания микробиоты. В группе ТФМ-ЧО/НО после временного увеличения количественных показателей ФМ наблюдалось значительное снижение до уровня контрольной группы, что совпадало с нивелированием положительного клинического ответа. Таким образом, если к Д+30 нет существенного клинического ответа, это означает отсутствие приживания ФМ, и ожидать его в дальнейшем не приходится. Причиной неприживания могут быть антибактериальная терапия до, во время и после ТФМ, которую получили 95% пациентов, и/или отсутствие «совместимого» донора [31]. Возможно, в будущих исследованиях стоит рассматривать вопрос о повторной ТФМ от другого донора, увеличивать дозировку и менять кратность введения ФТ.

II – этап устойчивого клинического ответа (Д+30-Д+120)

Этот этап относится исключительно к группе с полным клиническим ответом. Таким образом, у пациентов из группы ТФМ-ПО зарегистрировано совпадение клинического и микробиологического ответов. Скорее всего, следует ожидать начала изменений со стороны метаболизма, иммунные сдвиги и как следствие – улучшение клинической картины РТПХ с поражением кишечника, а также эффект деколонизации УПМ и инфекции, связанной с *C. difficile* [32].

III – этап поздних клинических ответов, иммунных и метаболических изменений (>Д+90 – +120)

К Д+90-Д+120 и далее можно предполагать этап ТФМ, который характеризуется дальнейшими иммунными [33, 34] и метаболическими изменениями [35, 36] и поздними клини-

чекскими эффектами: устойчивый аппетит, набор массы тела, увеличение индекса массы тела, снижается частота инфекционных эпизодов. Побочные эффекты в 1-ю неделю после ТФМ со стороны ЖКТ по частоте и выраженности сравнимы с группой плацебо. Однако можно отметить, что после ТФМ менее выражены болевой синдром, тошнота, значительно уменьшается частота парезов кишечника. Инфекционные осложнения в ранний и поздний периоды после ТФМ не отличались по частоте, тяжести и исходу от группы плацебо.

Условия проведения ТФМ определялись степенью тяжести пациента. В отделении реанимации и интенсивной терапии ТФМ выполнили 9 пациентам с кишечным кровотечением [37]. Амбулаторно ТФМ получили 5 больных, однако ни у одного из пациентов не зарегистрировано серьезное неблагоприятное событие, потребовавшее назначения терапии или госпитализации. На наш взгляд, при выборе доноров ФТ следует учитывать не столько степень родства донора и реципиента, сколько состав микробиоты и наличие УПМ. Оптимальным решением может быть отказ от использования родственного донора, что совпадает с мнением экспертов Международной консенсусной конференции по организации банка для ТФМ [38].

Стоит отметить, что, несмотря на обнаруженный эффект, численность группы плацебо (8 пациентов) оказалась недостаточной для формальной демонстрации статистической значимости в наблюдаемых различиях для случая ПО. При этом для ЧО межгрупповые различия выражены сильнее, и статистическая значимость продемонстрирована. Следует также обратить внимание, что группы ТФМ и плацебо

оказались недостаточно сбалансированы. Так, в группе плацебо имелся больший удельный вес гаплоидентичных алло-ТГСК и отсутствовали больные с хронической РТПХ. В связи с этим в данном небольшом исследовании мы с осторожностью оцениваем клиническую эффективность ТФМ и делаем акцент на переносимости процедуры и доказательной базе позитивной динамики кишечной микрофлоры.

Заключение

Оценка частоты ПО и частичных клинических ответов на ТФМ у пациентов с резистентными формами острой и хронической (overlap-синдром) РТПХ с поражением кишечника после алло-ТГСК выявила позитивную динамику по выраженности общих и кишечных симптомов в ранние сроки после ТФМ по сравнению с пациентами, получавшими плацебо.

Полуколичественную мультиплексную ПЦР состава кишечной микробиоты можно использовать для оценки приживления ФТ, которое регистрировали к Д+30 после ТФМ.

ТФМ от здоровых доноров пациентам с резистентной формой кишечной РТПХ является безопасной процедурой без жизнеугрожающих неблагоприятных явлений.

Выбор для ТФМ неродственного донора имеет ряд преимуществ перед родственным донором фекальной микробиоты.

В дальнейшем необходимы дополнительные исследования для уточнения клинической эффективности ТФМ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Walker AW, Duncan SH, Louis P, Flint HJ. Phylogeny, culturing, and metagenomics of the human gut microbiota. *Trends Microbiol.* 2014;22(5):267-74. doi: 10.1016/j.tim.2014.03.001
- Montemurno E, Cosola C, Dalfino G, et al. What would you like to eat, Mr CKD Microbiota? A Mediterranean Diet, please! *Kidney Blood Press Res.* 2014;39(2-3):114-23. doi: 10.1159/000355785
- Ткаченко Е.И., Суворов А.Н. Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению. СПб.: ИнформМед, 2009 [Tkachenko EI, Suvorov AN. Intestinal Dysbiosis. A Handbook of Diagnostics and Treatment. Saint Petersburg: InformMed, 2009 (In Russ.)].
- Manzanares W, Lemieux M, Langlois PL, Wischmeyer PE. Probiotic and synbiotic therapy in critical illness: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2016;20:262. doi: 10.1186/s13054-016-1434-y
- Shi N, Li N, Duan X, Niu H. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil Med Res.* 2017;4:14. doi: 10.1186/s40779-017-0122-9
- Jian C, Luukkonen P, Yki-Järvinen H, et al. Quantitative PCR provides a simple and accessible method for quantitative microbiota profiling. *PLoS One.* 2020;15(1):e0227285. doi: 10.1371/journal.pone.0227285
- Huttenhower C, Gevers D, Knight R, et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486:207-14. doi: 10.1038/nature11234
- Taur Y. Intestinal microbiome changes and stem cell transplantation: Lessons learned. *Virulence.* 2016;7(8):930-8. doi: 10.1080/21505594.2016.1250982
- Peled JU, Gomes ALC, Devlin SM, et al. Microbiota as predictor of mortality in allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2020;382:822-34. doi: 10.1056/NEJMoa1900623
- Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery.* 1958;44(5):854-9.
- Головенко А.О., Головенко О.В., Халиф И.Л. Опыт успешной трансплантации фекальной микробиоты при рецидивирующей инфекции Clostridium difficile. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2016;136(12):115-20 [Golovenko AO, Golovenko OV, Khalif IL. The experience of successful fecal microbiota transplantation in recurrent Clostridium Difficile infection. *Exp and Clin Gastroenterol.* 2016;136(12):115-20 (In Russ.)].
- Голощупов О.В., Кучер М.А., Суворова М.А. и др. Первый опыт терапии полирезистентных инфекционных осложнений, ассоциированных с Clostridium difficile и Klebsiella pneumoniae, методом трансплантации фекальной микробиоты у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Инфекционные болезни.* 2017;15(3):65-74 [Goloshchapov OV, Kucher MA, Suvorova MA, et al. A first experience of therapy of multi-resistant infectious complications associated with Clostridium difficile and Klebsiella pneumoniae, using a method of fecal microbiota transplantation in patients after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Infekzionnye Bolezni.* 2017;15(3):65-74 (In Russ.)]. doi: 10.20953/1729-9225-2017-3-65-74
- Карпукhin О.Ю., Зиганшин М.И., Хасанов Э.Р., Бикбов Б.Ш. Трансплантация фекальной микробиоты: результаты пилотного исследования. *Практическая медицина.* 2018;6(107):35-9 [Karpukhin OY, Ziganshin MI, Khasanov ER, Bikbov BS. Transplantation of fecal microbiota: results of a pilot study. *Practical Medicine.* 2018;6(107):35-9 (In Russ.)]. doi: 10.32000/2072-1757-2018-16-8-35-39
- Шрайнер Е.В., Морозов В.В., Хавкин А.И. и др. Опыт проведения трансплантации фекальной микробиоты у пациентки с клостридиальной инфекцией. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2018;12:80-3 [Schreiner EV, Morozov VV, Khavkin AI, et al. Experience with fecal microbiota transplantation in a female patient with clostridial infection. *Ekspierimentalnaya i Klinicheskaya Gastroenterologiya.* 2018;12:80-3 (In Russ.)].
- Щербakov П.Л., Белова Н.Д., Генерозов Э.В. и др. Применение фекальной трансплантации в лечении заболеваний пищеварительного тракта (первый клинический опыт). *Доктор.Ру.* 2019;3(158):40-6 [Shcherbakov PL, Belova ND, Generozov EV, et al. Usage of fecal transplantation for treatment of non-clostridial antibiotic-associated co-

- litis (a clinical experience). *Doktor.ru*. 2013;3(158):40-6 (In Russ.]. doi: 10.31550/1727-2378-2019-158-3-40-46
16. Захаренко А.А., Шлык И.В., Суворов А.Н. и др. Применение фекальной трансплантации при лечении неклостридиального антибиотик-ассоциированного колита (клинический случай). *Колопроктология*. 2017;2:75-9 [Zakharenko AA, Shlyk IV, Suvorov AN, et al. Application of fecal transplantation in the treatment of no-clostridia antibiotic-associated colitis (clinical case). *Koloproktologiya*. 2017;2:75-9 (In Russ.)].
 17. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*. 1974;18(4):295-304. doi: 10.1097/00007890-197410000-00001
 18. Martin PJ, Bachier CR, Klingemann H-G, et al. Endpoints for clinical trials testing treatment of acute graft-versus-host disease: a consensus document. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(7):777. doi: 10.1016/j.bbmt.2009.03.012
 19. Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32(9):920-4. doi: 10.3109/00365529709011203
 20. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0. https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Reference_8.5x11.pdf
 21. WHO guidelines on the pharmacological treatment of persisting pain in children with medical illnesses Geneva: World Health Organization; 2012. PMID: 23720867.
 22. WHO Guidelines for the Pharmacological and Radiotherapeutic Management of Cancer Pain in Adults and Adolescents. Geneva: World Health Organization; 2018. <https://www.who.int/ncds/management/palliative-care/cancer-pain-guidelines/en/>
 23. Trichopoulou A, Martínez-González MA, Tong TY, et al. Definitions and potential health benefits of the Mediterranean diet: views from experts around the world. *BMC Med*. 2014;12(112). doi: 10.1186/1741-7015-12-112
 24. Therneau T. 2015. A package for survival analysis in S_. version 2.38. <https://CRAN.R-project.org/package=survival>
 25. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. 2016. Springer-Verlag New York.
 26. Kassambara A. 2019. ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. R package version 0.2.4. <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>
 27. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2017;66(4):569-80. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313017
 28. Shono Y, van den Brink MRM. Gut microbiota injury in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(5):283-95. doi: 10.1038/nrc.2018.10
 29. Seekatz AM, Aas J, Gessert CE, et al. Recovery of the gut microbiome following fecal microbiota transplantation. *mBio*. 2014;5(3):e00893-14. doi: 10.1128/mBio.00893-14
 30. Goloshchupov OV, Olekhovich EI, Sidorenko SV, et al. Long-term impact of fecal transplantation in healthy volunteers. *BMC Microbiol*. 2019;19(312). doi: 10.1186/s12866-019-1689-y
 31. Smillie CS, Sauk J, Gevers D, et al. Strain tracking reveals the determinants of bacterial engraftment in the human gut following fecal microbiota transplantation. *Cell Host Microbe*. 2018 Feb 14;23(2):229-40. doi: 10.1016/j.chom.2018.01.003
 32. Britton RA, Young VB. Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by *Clostridium difficile*. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1547-53. doi: 10.1053/j.gastro.2014.01.059
 33. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 2013;504:446-50. doi: 10.1038/nature12721
 34. Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:12204-9. doi: 10.1073/pnas.0909122107
 35. Floch MH. Intestinal microbiota metabolism of a prebiotic to treat hepatic encephalopathy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13:209. doi: 10.1016/j.cgh.2014.06.008
 36. Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med*. 2014;20(2):159-66. doi: 10.1038/nm.3444
 37. Голошапов О.В., Чуракина Д.В., Кучер М.А. и др. Трансплантация фекальной микробиоты при критическом состоянии пациентов в онкогематологической практике. *Вестн. анестезиологии и реаниматологии*. 2019;16(3):63-73 [Goloshchupov OV, Churakina DV, Kucher MA, et al. Fecal microbiota transplantation in critical condition patients in hematological practice. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*. 2019;16(3):63-73 (In Russ.)]. doi: 10.21292/2078-5658-2019-16-3-63-73
 38. Cammarota G, Ianiro G, Kelly CR, et al. International consensus conference on stool banking for faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2019;68:2111-21. doi: 10.1136/gutjnl-2019-319548

Поступила 13.04.2020

Информативность диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии всего тела и позитронно-эмиссионной томографии с компьютерной томографией при фолликулярной лимфоме

Е.С. Нестерова, Г.А. Язык, Н.С. Лутик, С.К. Кравченко, А.Б. Судариков, И.В. Красильникова, Э.Г. Гемджян, А.М. Ковригина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель. Изучение возможностей диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии всего тела – МРТ-ДВИ-ВТ (в сравнении с позитронно-эмиссионной томографией с компьютерной томографией – ПЭТ/КТ) в оценке объема и распространенности опухоли, а также определении поражения костного мозга (при различных цитологических типах) при диагностике и стадировании заболевания у больных фолликулярной лимфомой (ФЛ).

Материалы и методы. В проспективное сравнительное поисковое исследование включены 15 пациентов (медиана возраста 53 года) с впервые диагностированной ФЛ. Противоопухолевую химиотерапию пациенты ранее не получали. После установления диагноза все пациенты обследованы методами ПЭТ/КТ и МРТ-ДВИ-ВТ, им также выполнено исследование костного мозга (гистологическое исследование, определение В-клеточной клональности в пунктате костного мозга методом полимеразной цепной реакции). Методом МРТ-ДВИ-ВТ у каждого пациента оценена распространенность опухолевого поражения, подсчитан суммарный объем опухоли, выполнена детекция поражения костного мозга и подсчитан объем костномозгового поражения. Для очагов поражения разной локализации определены и сопоставлены друг с другом (для одних и тех же зон) измеряемый коэффициент диффузии (ИКД) метода МРТ-ДВИ-ВТ и стандартизированный показатель накопления радиофармпрепарата в тканях (SUV) метода ПЭТ/КТ. Статистический анализ проведен с использованием оценки согласия (с коэффициентом каппа Коэна и асимптотическим тестом) результатов сравниваемых методов.

Результаты. Оценки распространенности опухолевого поражения методами МРТ-ДВИ-ВТ и ПЭТ/КТ совпали. Высокие значения ИКД и SUV отмечались в периферических лимфатических узлах, экстранодальных очагах и bulky, низкие значения – в очагах поражения костного мозга. Все 4 метода успешно определяли поражение костного мозга, однако у метода МРТ-ДВИ-ВТ отмечено сравнительно меньше отрицательных результатов. Самые высокие значения SUV (метод ПЭТ/КТ) и ИКД (метод МРТ-ДВИ-ВТ) отмечались в случаях 3-го цитологического типа ФЛ. Методом МРТ-ДВИ-ВТ у каждого пациента оценена распространенность опухолевого поражения и подсчитан суммарный объем опухоли, выполнена детекция поражения костного мозга и подсчитан объем костномозгового поражения. С помощью МРТ-ДВИ-ВТ удалось измерить отдельно общий объем опухоли (46–2025 см³) и отдельно объем опухолевых конгломератов bulky (25–1358 см³). Метод МРТ-ДВИ-ВТ позволил провести дифференциальную диагностику объема опухолевой ткани (редуцировавшей в результате лечения) и резидуальной (фиброзно-жировой) ткани в остаточных образованиях, который составил в среднем 21% от исходного объема. Предикторами плохого противоопухолевого ответа оказались максимальные значения SUV (более 14,0) и минимальные значения ИКД ($0,5 \times 10^{-3}$ мм²/с) в костномозговых очагах.

Заключение. Метод МРТ-ДВИ-ВТ позволяет получать детализированную визуализацию костномозговых очагов поражения и окружающих мягких тканей как в дебюте ФЛ, так и в процессе мониторинга эффективности полихимиотерапии; позволяет раздельно оценивать объем истинной опухолевой ткани и остаточного образования. Случаи 3-го цитологического типа ФЛ вычлняются благодаря низким значениям ИКД (и высоким значениям SUV) в опухолевой ткани. Костномозговые очаги поражения ФЛ также имеют более низкие значения ИКД. Предикторами плохого противоопухолевого ответа оказались высокие (от 14,0 и более) значения SUV в опухоли (и особенно в bulky) и низкие (около $0,5 \times 10^{-3}$ мм²/с) значения ИКД костномозговых очагов. Методы ПЭТ/КТ и МРТ-ДВИ-ВТ показали себя как надежные диагностические инструменты для установления стадии ФЛ и детекции поражения костного мозга. МРТ-ДВИ-ВТ при ФЛ является информативным диагностическим методом первой линии, позволяющим проводить регулярный мониторинг заболевания и обеспечивать раннее выявление очагов рецидивирования и прогрессирования заболевания.

Ключевые слова: фолликулярная лимфома, диффузионно-взвешенная магнитно-резонансная томография всего тела, позитронно-эмиссионная томография, поражение костного мозга.

Для цитирования: Нестерова Е.С., Язык Г.А., Лутик Н.С. и др. Информативность диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии всего тела и позитронно-эмиссионной томографии с компьютерной томографией при фолликулярной лимфоме. Терапевтический архив. 2020; 92 (7): 55–62. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000774

Informativeness of whole-body diffusion-weighted magnetic resonance imaging and positron emission tomography with computed tomography in follicular lymphoma

E.S. Nesterova, G.A. Yatsyk, N.S. Lutsik, S.K. Kravchenko, A.B. Sudarikov, I.V. Krasil'nikova, E.G. Gemdzhian, A.M. Kovrigina

National Research Center for Hematology, Moscow, Russia

Aim. This study conducted the possibilities of diffusion-weighted magnetic resonance imaging of the whole body – diffusion WB-MRI (in comparison with positron emission tomography with computed tomography – PET/CT) in assessing the volume and prevalence of the tumor, as well as determining bone marrow (BM) damage (for various cytological types) in the diagnosis and staging of the disease in patients with FL.

Materials and methods. A prospective comparative search study included 15 patients (4 men and 11 women, with a median age of 53 years) with newly diagnosed FL. Patients have not received antitumor chemotherapy previously. After the diagnosis was established, all patients (with the blindness of both the cases themselves and some specialists regarding the results of other specialists) were examined by PET/CT and diffusion WB-MRI, after which a BM examination was performed (histological examination and determination of B-cell clonality in BM puncture by PCR). Using the diffusion WB-MRI method, the prevalence of tumor lesion (nodal and extranodal foci) in each patient was estimated, and the total tumor volume was calculated, BM lesion was detected, and BM lesion volume was calculated. For lesions of

different localization, the measured diffusion coefficient (DC) of the diffusion WB-MRI and the standardized rate of accumulation of the radiopharmaceutical in tissues (SUV) of the PET/CT method were determined and compared with each other (for the same areas). Statistical analysis was performed using the estimate of agreement (by Cohen's kappa coefficient and asymptotic test) of the results of the compared methods.

Results. Estimates of the prevalence of tumor damage (lymph nodes and extranodal foci) using the diffusion WB-MRI and PET/CT methods were the same. High DC and SUV were observed in the peripheral lymph nodes, extranodal foci and bulky, low DC and SUV – in the foci of BM. All 4 methods successfully determined BM damage, however, the diffusion WB-MRI had comparatively less negative results. The highest values of SUV and CD were noted in cases of the 3 grade of FL. Using the diffusion WB-MRI method, the prevalence of tumor lesion was assessed in each patient (nodal and extranodal foci were detected) and the total tumor volume was calculated, BM lesion detection was performed, and the volume of BM lesion was calculated. It is important to note that with the help of diffusion WB-MRI, it was possible to measure separately the total tumor volume (46–2025 cm³) and separately the volume of bulky (25–1358 cm³). The diffusion WB-MRI allowed us to differentiate the volume of tumor tissue (reduced as a result of treatment) and residual (fibrous-adipose) tissue in residual formations (which averaged 21% of the initial volume). The predictors of a poor antitumor response were the maximum SUV values (more than 14.0) and the minimum DC values (0.5×10⁻³ mm²/s) in the BM foci.

Conclusion. The diffusion WB-MRI allows for detailed visualization of BM lesions and surrounding soft tissues both in the debut of the FL and in the process of tracking the effectiveness of chemotherapy, which makes it possible to use it along with PET/CT. Diffusion WB-MRI allows to separately evaluate the volume of true tumor tissue and residual tissue. Cases of the 3 grade of FL (including the transformation of FL into diffuse B-large cell lymphoma) are isolated due to low DC values (and high SUV values) in the tumor tissue. BM foci of FL lesion also have (in comparison with nodal and extranodal foci) lower DC values. The predictors of a poor antitumor response were high (from 14.0 or more) SUV values in the tumor (and especially in bulky), and low (about 0.5×10³ mm²/s) DC values of BM foci. The PET/CT and diffusion WB-MRI have proven to be reliable diagnostic tools for establishing the stage of FL and detecting BM damage. Diffusion WB-MRI for FL is an informative first-line diagnostic method that allows regular monitoring of the disease and early detection of foci of relapse and disease progression.

Keywords: follicular lymphoma, diffusion WB-MRI, PET, bone marrow.

For citation: Nesterova E.S., Yatsyk G.A., Lutsik N.S., et al. Informativeness of whole-body diffusion-weighted magnetic resonance imaging and positron emission tomography with computed tomography in follicular lymphoma. *Therapeutic Archive.* 2020; 92 (7): 55–62. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000774

ДВИ – диффузионно-взвешенное изображение

ИКД – измеряемый коэффициент диффузии

КТ – компьютерная томография

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

МРТ-ДВИ-ВТ – магнитно-резонансная томография с диффузионно-взвешенным изображением всего тела

ПХТ – полихимиотерапия

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЭТ/КТ – позитронно-эмиссионная томография/КТ

РФ – радиофармпрепарат

ФДГ – фтор-2-дезоксид-глюкоза

ФЛ – фолликулярная лимфома

FLIPI (Follicular Lymphoma International Prognostic Index) – международный прогностический индекс фолликулярной лимфомы

SUV (standardized uptake value) – показатель накопления радиофармпрепарата в тканях

Фолликулярная лимфома (ФЛ) является В-клеточной опухолью, характеризующейся (в большинстве случаев) генерализованным поражением органов лимфатической системы и индолентным клиническим течением. Определение стадии опухолевого заболевания является важнейшим диагностическим этапом, определяющим противоопухолевую терапию. Стадирование лимфатических опухолей при ФЛ производится по системе Ann Arbor, основанной на оценке числа вовлеченных в опухолевый процесс зон, а модификация Cotswolds определяет (в качестве дополнительного про-

гностического фактора) объем опухолевого поражения. Для исходной оценки опухолевой массы и последующего мониторинга результатов лечения рассчитывается сумма произведений перпендикулярных размеров 6 наиболее крупных очагов в различных областях поражения [1]. Более точную информацию о распространенности опухолевого процесса предоставляет такой показатель, как суммарный объем опухоли, но в рутинной клинической практике в связи с техническими сложностями и трудностями в расчетах он обычно не используется.

Определение зон опухолевого поражения и оценка опухолевой нагрузки возможны с применением различных методов визуализации: компьютерной томографии (КТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ) и позитронно-эмиссионной томографии с КТ (ПЭТ/КТ). Согласно рекомендациям, принятым на экспертном совете российских и международных экспертов [1], КТ и ПЭТ/КТ с использованием радиофармпрепарата (РФП) фтор-2-дезоксид-глюкозы (ФДГ) – основные методы визуализации при диагностике и стадировании лимфом. ПЭТ/КТ по сравнению с КТ более информативный метод, позволяющий выявлять нодальные и экстранодальные очаги, а также оценивать метаболическую активность опухолевой ткани. Диагностическая точность ПЭТ/КТ с ФДГ за-

Сведения об авторах:

Яцьк Галина Александровна – к.м.н., зав. отд-нием магнитно-резонансной томографии и ультразвуковой диагностики. ORCID: 0000-0001-8589-6122

Луцк Наталья Сергеевна – врач-рентгенолог отделения магнитно-резонансной томографии и ультразвуковой диагностики. ORCID: 0000-0002-7556-2054

Кравченко Сергей Кириллович – к.м.н., зав. отд-нием интенсивной высококодозной химиотерапии гемобластозов с дневным и круглосуточным стационаром. ORCID: 0000-0002-1269-1449

Судариков Андрей Борисович – д.б.н., зав. лаб. молекулярной гематологии. ORCID: 0000-0001-9463-9187

Красильникова Инна Владимировна – врач-ординатор отд-ния интенсивной высококодозной химиотерапии гемобластозов с дневным и круглосуточным стационаром. ORCID: 0000-0002-0399-4309

Гемджян Эдуард Георгиевич – с.н.с. лаб. биостатистики. ORCID: 0000-0002-8357-977x

Ковригина Алла Михайловна – д.б.н., зав. патологоанатомическим отд-нием. ORCID: 0000-0002-1082-8659

Контактная информация:

Нестерова Екатерина Сергеевна – к.м.н., науч. сотр., врач-гематолог отд-ния интенсивной высококодозной химиотерапии гемобластозов с дневным и круглосуточным стационаром. Тел.: +7(910)429-62-26; e-mail: nest.ek@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-6035-9547

висит от чувствительности опухолевых клеток к ФДГ (проявляющейся степенью накопления ФДГ опухолевыми клетками). Метод ПЭТ/КТ с ФДГ высокоинформативен в диагностике лимфомы Ходжкина, агрессивных неходжкинских лимфом и ФЛ [2]. При множественной миеломе ПЭТ/КТ столь же информативна, как и МРТ всего тела [3]. В диагностике MALT-лимфом и хронического лимфолейкоза [4] диагностическая точность ПЭТ/КТ недостаточно стабильна.

Наряду с неоспоримыми достоинствами методы КТ и ПЭТ/КТ имеют ряд недостатков: высокая лучевая нагрузка, риск развития осложнений при введении РФП (аллергические реакции, нефрогенный системный фиброз при хронической почечной недостаточности у больных множественной миеломой и другими гемобластозами), необходимость длительной подготовки (связанной с введением РФП). Перечисленных недостатков лишен метод МРТ, но у него есть свои: противопоказан пациентам с имплантированными металлическими конструкциями (из большинства сплавов) и устройствами жизнеобеспечения, РФП (гадолиний, оксид железа) могут откладываться в органах и тканях (например, в головном мозге, коже, костях). Поиск эффективных и одновременно удобных методов визуализации лимфатических опухолей [5–7], включая ФЛ, продолжается [8–13]. Одним из таких методов является МРТ с диффузионно-взвешенным изображением всего тела (МРТ-ДВИ-ВТ).

Метод МРТ-ДВИ-ВТ – вариант метода МРТ, позволяющий обнаруживать опухолевые изменения за счет анализа диффузии внутриклеточных молекул воды. Оценка диффузии молекул воды осуществляется с помощью измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) [14]. В опухолевой ткани происходит уменьшение интерстициального внеклеточного пространства вследствие увеличения (набухания) клеток (увеличиваются плотность их мембран и внутриклеточный объем). Эти изменения приводят к снижению значений ИКД [15]. Последующий лизис (некроз) клеток ведет к разрежению опухолевой ткани и, соответственно, увеличению внеклеточного пространства и воды в нем, что отражается повышением значений ИКД. Важно отметить, что МРТ-ДВИ-ВТ позволяет выявлять очаги патологического изменения в структурах, размеры которых еще не изменены. Поскольку МРТ-ДВИ-ВТ производится одним и тем же сканером без перекладывания пациента, снижается вероятность несовпадения срезов анатомической и функциональной серий и определяется распространенность опухолевого процесса без введения контрастного вещества.

В течение последних 10 лет ведутся исследования по оценке клинического применения МРТ-ДВИ-ВТ в диагностике гемобластозов. Опубликованы работы, касающиеся опыта применения данного метода визуализации при диффузной В-крупноклеточной лимфоме, лимфоме Ходжкина, MALT-лимфоме, хроническом лимфолейкозе, множественной миеломе [5–7]. В ряде сравнительных исследований по неходжкинским лимфомам показано, что совпадение информативности МРТ-ДВИ-ВТ и ПЭТ/КТ в оценке объема опухолевого поражения составляет от 90 до 94% [16, 17]. При лимфомах, обладающих переменной чувствительностью к ФДГ (например, MALT-лимфома и лимфома из малых лимфоцитов), МРТ-ДВИ-ВТ рекомендуется как наиболее информативный метод исследования [17].

По результатам ряда исследований точность МРТ-ДВИ-ВТ при оценке объема опухолевого поражения при ФЛ превышает 95% [8, 9, 15]. Поскольку инфильтрация костного мозга наблюдается у большинства (около 80%) больных ФЛ [18–21], проведение трепанобиопсии костного мозга (с

последующим его гистологическим изучением) при ФЛ обязательно. В настоящее время эффективность МРТ-ДВИ-ВТ в выявлении специфического поражения костного мозга (даже при минимальной его вовлеченности) при ФЛ доказана [8, 9, 15, 22]. В то же время информативность данного метода исследования при различных цитологических типах ФЛ ранее не оценивалась.

Цель исследования – изучение возможностей метода МРТ-ДВИ-ВТ в оценке объема и распространенности опухоли, а также определения поражения костного мозга (при различных цитологических типах заболевания) у пациентов с ФЛ.

Материалы и методы

В проспективное сравнительное поисковое исследование, проведенное с октября 2018 по январь 2020 г. в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, включены 15 пациентов (4 мужчины и 11 женщин) с медианой возраста 53 года с впервые диагностированной ФЛ. Диагноз ФЛ установлен по общепринятым критериям [23–25], противоопухолевую химиотерапию пациенты ранее не получали.

Общая характеристика обследованных больных

В соответствии с критериями Ann Arbor все обследованные пациенты имели распространенную стадию заболевания (стадия IV) ФЛ. У 12 из 15 пациентов выявлены экстранодальные очаги опухолевого поражения различной локализации. У 7 из 15 обследованных опухоль имела значительные размеры (конгломерат лимфатических узлов более 6 см, bulky) и сочеталась с экстранодальным поражением (6 из 7 больных). У большинства пациентов (11 из 15) диагностирован 1–2-й цитологический тип ФЛ, в 4 (из 15) случаях – 3-й тип (2 случая – 3А тип с участками 2-го типа, 2 случая – 3В тип). Распределение по характеру опухолевого роста оказалось следующим: в 8 случаях диагностирован нодулярный характер роста, в 6 – нодулярно-диффузный и в 1 – диффузный. Имели высокий (3–5 баллов) индекс FLIPI (международный прогностический индекс ФЛ) 10 (из 15) больных (табл. 1).

Согласно дизайну исследования после установления диагноза ФЛ всем пациентам проведены с соблюдением «ослепленности» как самих пациентов, так и специалистов (по одному методу в отношении результатов другого метода) обследования методами ПЭТ/КТ и МРТ-ДВИ-ВТ, а также гистологическое исследование костного мозга (на материале двусторонней трепанобиопсии) и определение В-клеточной клональности в пунктате костного мозга (методом полимеразной цепной реакции – ПЦР).

Методом МРТ-ДВИ-ВТ у каждого пациента оценена распространенность опухолевого поражения (выявлены нодальные и экстранодальные очаги) и подсчитан суммарный объем опухоли, выполнена детекция поражения костного мозга и подсчитан объем костномозгового поражения. Для очагов поражения разной локализации определен ИКД ($\times 10^{-3}$ мм²/с) метода МРТ-ДВИ-ВТ и сопоставлен со значениями (в тех же зонах) стандартизированного показателя накопления РФП в тканях (SUV) метода ПЭТ/КТ. Для минимизации субъективности в оценке инструментальных данных МРТ-ДВИ-ВТ и ПЭТ/КТ эти данные проанализированы двумя сторонними экспертами-радиологами.

Статистический анализ проведен с использованием оценки согласия (с коэффициентом каппа Коэна и асимптотическим тестом) и многофакторного анализа (логистической регрессии).

Таблица 1. Характеристики обследованных больных ФЛ (стадия IV по Ann Arbor)

№	Bulky	Цитологический тип	Морфологический вариант	Ki-67, %	ЛДГ, Е/л	Экстранодальные очаги	FLIPI
1	Есть	2	2	20	1040	Мягкие ткани, кости	5
2	Нет	2	2	10	1126	Миндалины, желудок, ДПК	3
3	Есть	2	1	15	1078	Кости	4
4	Нет	2	1	50	598	Кости, позвонки	3
5	Есть	2	2	5	387	Нет	3
6	Есть	3В	3	80	1400	Межмышечное образование ягодичной области	4
7	Нет	3А+2	2	60	337	Миндалины, брыжейка тонкой кишки, кости	2
8	Нет	2	1	10	345	Мягкие ткани	1
9	Есть	2	1	10	221	Очаговое поражение селезенки	2
10	Есть	2	1	10	378	Ребро	2
11	Нет	1	1	20	296	Плевра, ребро, позвонки, желудок	4
12	Нет	3А+2	2	30	432	Околоушная железа, дужка позвонка	4
13	Есть	2	2	20	449	Плевра	3
14	Нет	2	1	10	481	Нет	4
15	Нет	3В	1	90	374	Миндалины, язычок	1

Примечание. Морфологический вариант роста опухоли: 1 – нодулярный/фолликулярный, 2 – нодулярно-диффузный, 3 – диффузный; ДПК – двенадцатиперстная кишка.

Результаты

Распространенность и метаболическая активность опухоли. Сопоставление с цитологическим типом ФЛ

Определение распространенности поражения лимфатических узлов и экстранодальных очагов методами МРТ-ДВИ-ВТ и ПЭТ/КТ совпало: у всех 15 пациентов выявлено генерализованное поражение (что соответствует IV стадии заболевания по системе Ann Arbor), у 7 (из 15) имелись bulky.

При исследовании методом ПЭТ/КТ во всех 15 случаях опухолевые клетки чувствительны к РФП. При 3В типе (2 больных) опухоль имела высокую метаболическую активность: показатель накопления радиофармпрепарата в тканях (SUV) составил 14,0–23,3, во всех остальных случаях не превышал 12,0 (что характерно для индолентных неходжкинских лимфом).

При исследовании методом МРТ-ДВИ-ВТ значения ИКД для 3-го цитологического типа ниже, чем при 1–2-м цитологических типах: 0,5–0,6 против 0,9–1,6 ($\times 10^{-3}$ мм²/с).

Также измерены ИКД и SUV в опухолевых периферических лимфатических узлах, экстранодальных очагах поражения, опухолевых конгломератах внутрибрюшной и забрюшинной локализации, а также в опухолевых очагах костного мозга. Наиболее высокие значения ИКД ($\times 10^{-3}$ мм²/с) отмечены в периферических лимфатических узлах (1,1), экстранодальных очагах (0,75) и bulky (0,7). ИКД в костномозговых очагах поражения имел в среднем сравнительно низкие значения (0,5–0,6) и не зависел от типа поражения (диффузного или очагового) и цитологического типа ФЛ.

В отличие от значений ИКД высокие значения SUV в равной степени наблюдались как в опухолевых периферических лимфатических узлах, так и в экстранодальных очагах поражения и массивных опухолевых конгломератах. В 6 случаях (протекающих с массивными опухолевыми кон-

гломератами) ИКД имел (в конгломератах) самые высокие значения (6,6–23,0).

Сравнительно низкий SUV (2,5–4,5) отмечался в очагах поражения костного мозга, что, возможно, объясняется меньшим пролиферативным потенциалом опухолевых клеток в костном мозге по сравнению с другими очагами.

Детекция поражения костного мозга

Поражение костного мозга, подтвержденное любым из используемых методов (гистология, методы ПЦР, ПЭТ/КТ, МРТ-ДВИ-ВТ) диагностировано у 11 из 15 больных. Метод МРТ-ДВИ-ВТ выявил поражение костного мозга у 10 (из этих 11 больных), ПЭТ/КТ – у 6, гистологический метод – у 7 и метод определения В-клеточной клональности в пунктате (ПЦР) – у 8 больных (табл. 2). В табл. 2 в строке «Заключение» приводятся (следуя логике врачебного решения учитывать все положительные ответы, чтобы не пропустить ни одного поражения) положительные ответы, полученные по крайней мере одним из сравниваемых методов. (Эти заключительные результаты верифицированы двумя экспертами-радиологами.)

Информативность разных методов по обнаружению поражения костного мозга с заключительными результатами показывает, что данное поражение детектируют все рассмотренные методы, однако информативность гистологического исследования трепанобиоптата костного мозга составляет в нашем исследовании 73%, молекулярного исследования – 80%, ПЭТ/КТ – 67%, МРТ-ДВИ-ВТ – 93%. Различия объясняются тем, что поражение костного мозга носит очаговый характер и трепанобиопсия выполняется «вслепую». Выявляемые по данным ПЭТ/КТ и МРТ-ДВИ-ВТ очаги костномозгового поражения труднодоступны для морфологической верификации (табл. 2, 3).

Многофакторный анализ (в который включены: цитологический тип ФЛ, характер опухолевого роста, высокие/низкие значения Ki67 и FLIPI, активность лактатдегидрогеназы

Таблица 2. Детекция поражения костного мозга разными методами

Номер пациента	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
ПЭТ/КТ (33%)	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0
МРТ-ДВИ-ВТ (7%)	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0
Гистология (27%)	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0
В-клеточная клональность (20%)	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0
Заключение	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0

Примечание: 1 – поражение есть; в скобках (%) приводится доля отрицательных ответов по каждому методу.

Таблица 3. Сравнение результатов разных методов по обнаружению поражения костного мозга с заключительными результатами

Методы	Коэффициент каппа Коэна (95% ДИ)	p-значение
ПЭТ/КТ	0,39 (0,04–0,74)	0,05
МРТ-ДВИ-ВТ	0,84 (0,15–0,57)	0,001
Гистология	0,48 (0,11–0,85)	0,03
В-клеточная клональность	0,59 (0,21–0,97)	0,01

(ЛДГ) выше/ниже нормы, концентрация β_2 -микроглобулина выше/ниже нормы, наличие поражения костного мозга, В-симптомов и bulky) показал, что с высокими значениями SUV и ИКД ассоциирован 3-й цитологический тип ФЛ (преимущественно за счет 3В типа), а также высокий (30–90%) индекс Ki67.

Дифференцированное вычисление объема опухоли

С помощью МРТ-ДВИ-ВТ дифференцированно определили (для 7 больных) объем опухоли: отдельно общий объем (45,5–2025 см³) и отдельно объем опухолевых конгломератов bulky (25–1358 см³), причем 50–90% приходилось на внутрибрюшинную и забрюшинную локализацию, а 10–50% – на другую. (Публикаций о подобных раздельных измерениях при ФЛ мы не встретили.)

Оценка размеров опухоли после проведенного лечения

Шести из 15 пациентов после 4 курсов противоопухолевой терапии повторно выполнено КТ, МРТ-ДВИ-ВТ и ПЭТ/КТ. У 4 (из 6) больных достигнуто значительное сокращение размеров опухоли (не менее 80% от исходных размеров). Примеры визуализации динамики уменьшения размеров опухоли представлены на рис. 1, 2.

Предикторами, ассоциированными с плохим противоопухолевым ответом, оказались: максимальные (более 14,0) значения SUV опухоли (особенно в bulky) и минимальные значения ИКД в костномозговых очагах.

Метод МРТ-ДВИ-ВТ позволил провести дифференциальную диагностику объема опухолевой и резидуальной (фиброзно-жировой) ткани в остаточных образованиях (после 4 курсов полихимиотерапии – ПХТ). Оказалось, что объем резидуальной ткани в остаточных (после лечения) образованиях составляет в среднем 21,2% (рассчитано по измерениям для 6 больных: 7, 20, 40, 8, 7 и 45%); рис. 3. (Публикаций о подобных раздельных оценках при ФЛ мы не встретили.)

Обсуждение

Лимфомы высокой степени злокачественности: лимфома Ходжкина и большинство агрессивных неходжкин-



Рис. 1. Диффузионно-взвешенные изображения (проекция максимальной интенсивности, МIP) методом МРТ-ДВИ-ВТ больной с ФЛ до (слева) и после (справа) проведения 4 курсов ПХТ. Стрелками указаны конгломераты увеличенных лимфатических узлов. После 4 курсов ПХТ определяется регресс конгломератов лимфатических узлов.

ских лимфом, таких как диффузная В-крупноклеточная лимфома, лимфома Беркитта, первичная медиастинальная лимфома и Т-клеточные лимфомы (например, ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома, АЛК-позитивная лимфома) – являются ФДГ-чувствительными, поэтому информативность ПЭТ/КТ в их диагностике высока (более 95%) [26]. При некоторых индолентных лимфомах, в частности при ФЛ, чувствительность к ФДГ в целом также высока, но интенсивность поглощения ФДГ более вариабельна [9, 27]. В нашем исследовании все случаи ФЛ – ФДГ-чувствительные, но метаболическая активность ФДГ зависела от цитологического типа опухоли. В отличие от ПЭТ/КТ информативность МРТ-ДВИ-ВТ не меньшая, но более стабильная и не зависела от цитологического типа (морфологии) опухоли (что согласуется с литературными данными) [28, 29].

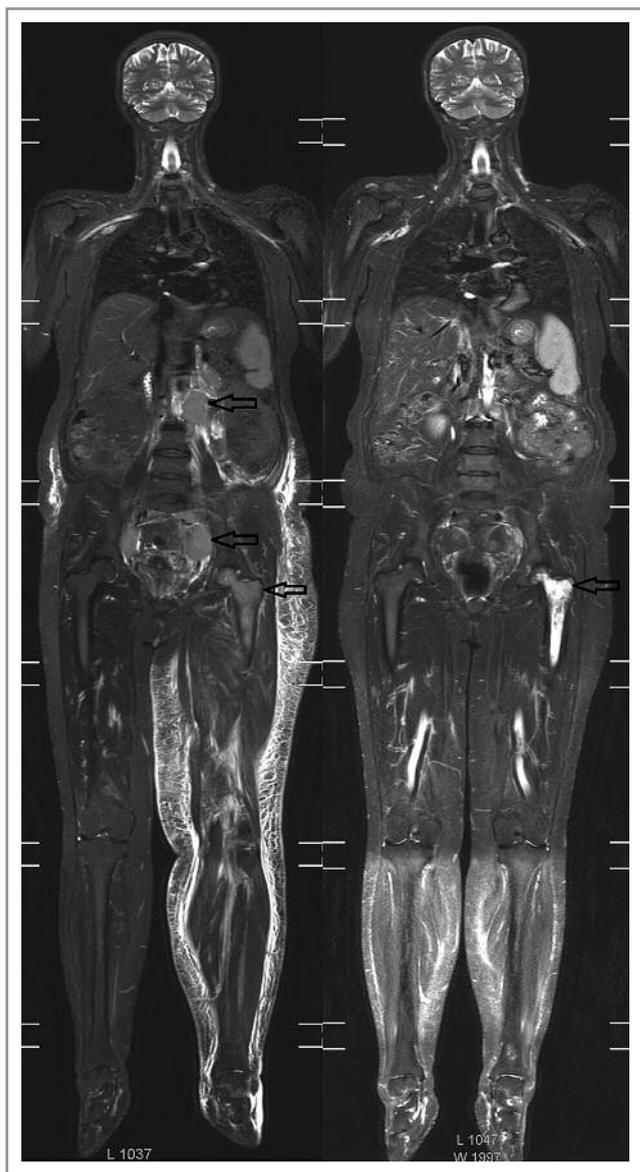


Рис. 2. Диффузионно-взвешенные изображения (импульсная последовательность, STIR) методом МРТ-ДВИ-ВТ больной ФЛ до (слева) и после (справа) проведения 4 курсов ПХТ. Стрелками указаны конгломераты увеличенных лимфатических узлов и инфильтрация костного мозга проксимальной части левой бедренной кости. После 4 курсов ПХТ определяются регресс конгломератов лимфатических узлов и патоморфоз костного мозга левой бедренной кости (также отмечается регресс отека подкожно-жировой клетчатки левой нижней конечности).

Метод МРТ-ДВИ-ВТ позволяет получать детализированную визуализацию костномозговых очагов поражения и окружающих мягких тканей как в дебюте заболевания, так и в процессе отслеживания эффективности ПХТ [30]. Наше исследование показало, что метод МРТ-ДВИ-ВТ, позволяя оценивать распространенность заболевания и детектировать вовлеченность костного мозга (и тем самым стадию заболевания), делает возможным его применение наряду с методом ПЭТ/КТ.

Для оценки эффективности терапии необходим расчет суммарного объема опухоли [31]. Уменьшение объема опу-

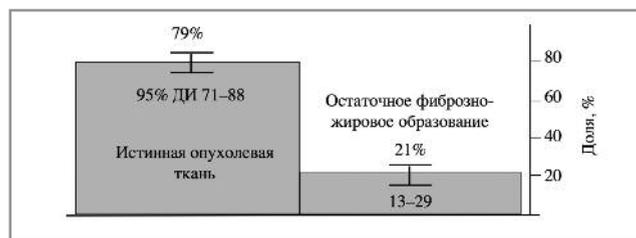


Рис. 3. Соотношение долей опухолевой ткани (редуцированной в результате лечения) и остаточного неопухолевого образования (процент от размера исходной опухоли).

Примечание. ДИ – доверительный интервал.

холевого образования свидетельствует о положительной динамике в лечении, но, во-первых, это уменьшение может запаздывать даже при эффективной терапии, а, во-вторых, наряду с уменьшением объема опухоли часто происходит ее структурное изменение (замещение опухолевой ткани фиброзно-жировой тканью). Методы УЗИ и КТ, используемые для расчета опухоли, не всегда дифференцируют опухолевую и остаточную (неопухолевую) ткань. Метод ПЭТ/КТ лучше справляется с этой задачей, однако он сопряжен с высокой лучевой нагрузкой и трудоемкими расчетами, что ограничивает его применение (особенно при динамическом наблюдении). В нашем исследовании метод МРТ-ДВИ-ВТ успешно раздельно оценил истинный объем опухоли и фиброзной ткани у больных ФЛ после 4 курсов лечения. Особо отметим, что в отличие от метода ПЭТ/КТ, допускающего гипердиагностику (визуализируемые очаги в костном мозге могут иметь не опухолевый, а реактивный характер), метод МРТ-ДВИ-ВТ обладает высокой дифференцирующей способностью.

Известно, что морфологическая классификация ФЛ зависит от соотношения centroцитов к centroбластам в биоптате опухоли [32]: при 1–2-м цитологическом типе ФЛ наблюдается минимальное количество centroбластов, при 3А типе встречаются зрелые centroциты, при 3В типе sarcomные клетки образуют пласты. Данное исследование, рассматривающее использование ПЭТ/КТ и МРТ-ДВИ-ВТ при ФЛ, позволяет дополнить дифференцирующие признаки: 3-й цитологический тип ФЛ и трансформация ФЛ в диффузную В-крупноклеточную лимфому характеризуются высокими значениями SUV и низкими – ИКД в опухолевой ткани. Костномозговые очаги поражения ФЛ имеют более низкие значения ИКД по сравнению с nodальными и экстраnodальными очагами.

По результатам ПЭТ/КТ и МРТ-ДВИ-ВТ определено, что у пациентов с bulky основной объем опухоли приходится на конгломерат лимфатических узлов внутрибрюшной или забрюшинной локализации и составляет 70–90%, а остальные 10–30% приходится на другие локализации. Предикторами плохого противоопухолевого ответа оказались высокие (от 14,0 и более) значения SUV в опухоли (и особенно в bulky) и низкие (около $0,5 \times 10^3$ мм²/с) значения ИКД костномозговых очагов. Связи ИКД других локализаций с результатами терапии нами не выявлено.

Заключение

Метод МРТ-ДВИ-ВТ при ФЛ является информативным диагностическим инструментом первой линии, позволяющим стадировать и мониторировать ФЛ, обеспечивая раннее выявление очагов рецидивирования и прогрессирования заболевания. МРТ-ДВИ-ВТ позволяет дифференци-

ровать истинный объем опухоли и остаточное образование (фиброзно-жировая ткань), а также с высокой точностью выявлять очаги поражения костного мозга. Обнаружение тех или иных признаков может быть подтверждено дополнительным исследованием методом ПЭТ/КТ (информативного и в случаях гистологической трансформации). Несмотря на диагностическую информативность методов МРТ-ДВИ-ВТ и ПЭТ/КТ, биопсия костного мозга остается стандартной процедурой в диагностике ФЛ [33, 34]. Раннее выявление методом МРТ-ДВИ-ВТ остеонекротических и остеопоротических изменений после проведения курсов терапии – повод раннего обращения пациентов к ортопедам для оказания необходимой медицинской помощи.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, et al. Recommendations for initial evaluation, staging and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol*. 2014;32:3059-67. doi: 10.1200/JCO.2013.54.8800
- Galia M, Albano D, Tarella C, et al. Whole Body Magnetic Resonance in Indolent Lymphomas Under Watchful Waiting: The Time Is Now. *Eur Radiol*. 2018;28(3):1187-93. PMID: 29018927. doi: 10.1007/s00330-017-5071-x
- Cavo M, Terpos E, Nanni Cr, et al. Role of 18 F-FDG PET/CT in the Diagnosis and Management of Multiple Myeloma and Other Plasma Cell Disorders: A Consensus Statement by the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol*. 2017;18(4):e206-e217. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30189-4
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. IwCLL Guidelines for Diagnosis, Indications for Treatment, Response Assessment, and Supportive Management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-60. PMID: 29540348. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398
- Kwee TC, Takahara T, Ochiai R, et al. Whole-body diffusionweighted magnetic resonance imaging. *Eur Radiol*. 2009;70:409-17. PMID: 19403255. doi: 10.1016/j.ejrad.2009.03.054
- Darge K, Jaramillo D, Siegel MJ. Whole-body MRI in children: Current status and future applications. *Eur Radiol*. 2008;68:289-98. PMID: 18799279. doi: 10.1016/j.ejrad.2008.05.018
- Vilanova JC, Barceló J. Diffusion-weighted whole-body MR screening. *Eur Radiol*. 2008;67:440-7. PMID: 18430538. doi: 10.1016/j.ejrad.2008.02.040
- Giraud Ch, Karanikas G, Weber M, et al. Correlation between glycolytic activity on [18F]-FDG-PET and cell density on diffusion-weighted MRI in lymphoma at staging. *J Magn Reson Imaging*. 2018 May;47(5):1217-26. PMID: 29086453. doi: 10.1002/jmri.25884
- Wu X, Sikiö M, Pertovaara H, et al. Differentiation of Diffuse Large B-cell Lymphoma From Follicular Lymphoma Using Texture Analysis on Conventional MR Images at 3.0 Tesla. *Acad Radiol*. 2016 Jun;23(6):696-703. doi: 10.1016/j.acra.2016.01.012
- Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Ковригина А.М. и др. Фолликулярная лимфома: критерии выбора терапии первой линии. *Терапевтический архив*. 2019;91(8):75-83 [Nesterova ES, Kravchenko SK, Kovrigina AM, et al. Follicular lymphoma: first-line selection criteria of treatment. *Therapeutic Archive*. 2019;91(8):75-83 (In Russ.)]. doi: 10.26442/00403660.2019.08.000388
- Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Ковригина А.М. и др. Фолликулярная лимфома: результаты многоцентрового исследования терапии первой линии препаратами бендамустин и ритуксимаб; факторы риска неблагоприятных событий (протокол FL-RUS-2013). *Онкогематология*. 2018;13(3):10-24 [Nesterova ES, Kravchenko SK, Kovrigina AM, et al. Follicular lymphoma: results of multicenter study of first-line therapy with bendamustine and rituximab; risk factors for adverse events (FL-RUS-2013 protocol). *Onkogematologiya = Oncohematology*. 2018;13(3):10-24 (In Russ.)]. doi: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-10-24
- Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Барях Е.А. и др. Трансплантация аутологичных стволовых клеток крови в первой ремиссии фолликулярной лимфомы как «терапия спасения» пациентов с факторами неблагоприятного прогноза. Результаты первого проспективного исследования. *Современная онкология*. 2016;18(5):31-2 [Nesterova ES, Kravchenko SK, Baryakh EA, et al. Autologous stem cells transplantation in the first remission of follicular lymphoma as “rescue therapy” in patients with unfavorable prognosis factors. The first prospective study results. *Journal of Modern Oncology*. 2016;18(5):31-2 (In Russ.)]. doi: 10.26442/1815-1434_2016.5.31-32
- Воробьев В.И., Гемджян Э.Г., Дубровин Е.И. и др. Риск-адаптированная интенсивная индукционная терапия, аутологичная трансплантация стволовых кровяных клеток и поддерживающая терапия ритуксимабом позволяют достигнуть высоких показателей 7-летней выживаемости у больных лимфомой из клеток мантимальной зоны. *Терапевтический архив*. 2019;91(7):41-51. doi: 10.26442/00403660.2019.07.000322 [Vorobyev VI, Gemdzhian EG, Dubrovin EI, et al. Risk-adapted intensive induction therapy, autologous stem cell transplantation, and rituximab maintenance allow to reach a high 7-year survival rate in patients with mantle cell lymphoma. *Therapeutic Archive*. 2019;91(7):41-51 (In Russ.)]. doi: 10.26442/00403660.2019.07.000322
- Bammer R. Basic principles of diffusion-weighted imaging. *Eur Radiol*. 2003;45:169-84. PMID: 12595101. doi: 10.1016/s0720-048x(02)00303-0
- Wong FC, Kim EE. A review of molecular imaging studies reaching the clinical stage. *Eur Radiol*. 2009;70:205-211. PMID: 19299097. doi: 10.1016/j.ejrad.2009.01.049
- Abdulqadir G, Molin D, Aström G. Whole body diffusion weighted imaging compared with FDG PET/CT in staging of lymphoma patients. *Acta Radiol*. 2011;52:173-80. PMID: 21498346. doi: 10.1258/ar.2010.100246
- Mayerhoefer ME, Karanikas G, Kletter K. Evaluation of diffusion-weighted MRI for pretherapeutic assessment and staging of lymphoma: Results of a prospective study in 140 patients. *Clin Cancer Res*. 2014;20:2984-93. PMID: 2469632. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3355
- Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Мангасарова Я.К. и др. Фолликулярная лимфома. Высокодозная иммунохимиотерапия с трансплантацией аутологичных стволовых клеток крови: результаты первого проспективного исследования в России. *Терапевтический архив*. 2016;88(7):62-71 [Nesterova ES, Kravchenko SK, Mangasarova YaK, et al. Follicular lymphoma. High-dose immunochemotherapy with autologous blood stem cell transplantation: Results of the first prospective study in Russia. *Therapeutic Archive*. 2016;88(7):62-71 (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh201688762-71
- Nesterova ES, Kravchenko SK, Baryakh EA. Autologous stem cell transplantation (AutoSCT) in first remission of follicular lymphoma (FL) “save” patients (pts) with poor prognosis. results of the first Russian prospective study. *Blood*. 2015;126(23):5079. doi: 10.1182/blood.V126.23.5079.5079
- Nesterova ES, Kravchenko SK, Kovrigina AM, et al. Front-line high dose therapy with following autologous stem cell transplantation (ASCT) for follicular lymphoma patients. *Blood*. 2014;124(21):5908. doi: 10.1182/blood.V124.21.5908.5908

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

21. Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Гемджян Э.Г. и др. Итоги десятилетнего опыта лечения больных фолликулярной лимфомой. *Гематология и трансфузиология*. 2012;57(5):3-8 [Nesterova ES, Kravchenko SK, Gemdzhian EG, et al. The results of ten years' experience treating patients with follicular lymphoma. *Gematologiya i Transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*. 2012;57(5):3-8 (In Russ.)]. doi: 20.500.11925/257570
22. Хоружик С.А., Жаврид Э.А., Сачивко Н.В. Новый алгоритм стадирования лимфомы на основе диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии всего тела. *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук*. 2018;15(2):179-98 [Kharuzhik SA, Zhavrid EA, Sachivko NV. New algorithm for lymphoma staging based on whole body diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*. 2018;15(2):179-98 (In Russ.)]. doi: 10.29235/1814-6023-2018-15-2-179-198
23. Кравченко С.К., Нестерова Е.С. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Рандомизированное, контролируемое (сравнительное) открытое, проспективное исследование по оценке эффективности программ R-EPOCH-21, R-CHOP-21 и трансплантации аутологичных стволовых клеток крови у больных фолликулярной лимфомой из группы высокого риска. Под ред. В.Г. Савченко. В 2 т. Т. 2. М.: Практика, 2018; с. 497-530 [Kravchenko SK, Nesterova ES. Diagnostic algorithms and protocols for the treatment of blood system diseases. A randomized, controlled (comparative) open, prospective study evaluating the effectiveness of the R-EPOCH-21, R-CHOP-21 programs and transplantation of autologous blood stem cells in patients with high-risk follicular lymphoma. Ed. VG Savchenko. In two volumes. Volume 2. Moscow: Practice, 2018; p. 497-530 (In Russ.)].
24. Кравченко С.К., Нестерова Е.С. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Проспективное многоцентровое исследование: комбинированная терапия первой линии препаратами бендамустин и ритуксимаб с последующей поддерживающей терапией ритуксимабом у больных фолликулярной лимфомой (протокол FL-RUS-2013). Под ред. В.Г. Савченко. В 2 т. Т. 2. М.: Практика, 2018. с. 101-31 [Kravchenko SK, Nesterova ES. Diagnostic algorithms and protocols for the treatment of diseases of the blood system. A prospective multicenter study: first-line combination therapy with bendamustine and rituximab followed by rituximab maintenance therapy in patients with follicular lymphoma (protocol FL-RUS-2013). VG Savchenko. In two volumes. Volume 2. Moscow: Practice, 2018; p. 101-31 (In Russ.)].
25. Кравченко С.К., Нестерова Е.С., Барях Е.А. Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Протокол лечения фолликулярной лимфомы у больных из группы высокого риска. Под ред. В. Г. Савченко. ФГБУ «Гематологический науч. центр» Министерства здравоохранения России. М.: Практика, 2012; с. 595-618 [Kravchenko SK, Nesterova ES, Baryakh EA. Collection of diagnostic algorithms and protocols for the treatment of diseases of the blood system. Protocol for the treatment of follicular lymphoma in patients at high risk. Hematological Scientific Center of the Russian Ministry of Health. Ed. VG Savchenko. Moscow: Practice, 2012; p. 595-618 (In Russ.)].
26. Weiler-Sagie M, Bushelev O, Epelbaum R. (18) F-FDG avidity in lymphoma readdressed: a study of 766 patients. *J Nucl Med*. 2010;51(1):25-30. doi: 10.2967/jnumed.109.067892
27. Schoder H, Noy A, Gonen M. Intensity of 18fluorodeoxyglucose uptake in positron emission tomography distinguishes between indolent and aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005;23(21):4643-51. doi: 10.1200/JCO.2005.12.072
28. Nesterova ES, Yatsyk GA, Lutsik NS, et al. The Possibilities of Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging in Determining the Burden of a Tumor in Patients with Follicular Lymphoma. *Blood*. 2019;134(Suppl. 1):5264. doi: 10.1182/blood-2019-126502
29. Wang D, Huo Y, Chen S. Whole-body MRI versus 18F-FDG PET/CT for pretherapeutic assessment and staging of lymphoma: a meta-analysis. *Onco Targets Ther*. 2018 Jun 20;11:3597-608. doi: 10.2147/OTTS.148189
30. Hynes JP, Hughes N, Cunningham P. Whole-body MRI of bone marrow: A review. *J Magn Reson Imaging*. 2019 Dec;50(6):1687-701. doi: 10.1002/jmri.26759
31. Badawi RD, Shi H, Hu P. First Human Imaging Studies with the EXPLORER Total-Body PET Scanner. *J Nucl Med*. 2019 Mar;60(3):299-303. doi: 10.2967/jnumed.119.226498
32. Swerdlow SH, Swerdlow S, Campo E, Harris N. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. World Health Organization 2017; Volume 2: Revised 4th edition.
33. Balbo-Mussetto A, Cirillo S, Bruna R. Whole-body MRI with diffusion-weighted imaging: A valuable alternative to contrast-enhanced CT for initial staging of aggressive lymphoma. *Clin Radiol*. 2016;71:271-9. doi: 10016/j.ejrn.2017.06.002
34. Adams HJ, Kwee TC, Vermoolen MA. Whole-body MRI for the detection of bone marrow involvement in lymphoma: prospective study in 116 patients and comparison with FDG-PET. *Eur Radiol*. 2013;23:2271-8. PMID: 23591618. doi: 10.1007/s00330-013-2835-9

Поступила 13.04.2020

Морфологические и иммуногистохимические предикторы почечного ответа на терапию у пациентов с миеломной каст-нефропатией и острым повреждением почек с потребностью в диализе

И.Г. Рехтина¹, Е.В. Казарина¹, Е.С. Столяревич^{2,3}, А.М. Ковригина^{1,4}, В.Н. Двирнык¹, С.М. Куликов¹, Л.П. Менделеева¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия;

²ГБУЗ «Городская клиническая больница №52» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия;

⁴Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва, Россия

Резюме

Цель. Выявить морфологические и иммуногистохимические предикторы обратимости острого повреждения почек (ОПП) с потребностью в диализе у больных миеломной каст-нефропатией (МКН) на основании исследования биоптатов почек.

Материалы и методы. Проведено исследование нефробиоптатов 36 пациентов с МКН и 3-й стадией ОПП (AKIN, 2012) с потребностью в диализе. Исследование биоптатов выполняли полуколичественным и количественным методом с применением компьютерной морфометрии. Иммуногистохимически в клетках эпителия канальцев и интерстиции определяли экспрессию E-кадгерина, виментина, α -гладкомышечного актина. Индукционная терапия 26 пациентам проводилась по бортезомибсодержащим программам, 10 больным использовали другие схемы. Сравнительный анализ морфологических изменений в нефробиоптатах в зависимости от почечного ответа выполнен у пациентов с достигнутой гематологической ремиссией.

Результаты. Улучшение функции почек наблюдалось только у пациентов с гематологическим ответом на терапию. Не выявлено различий в количестве склерозированных клубочков, белковых цилиндров, площади клеточной воспалительной инфильтрации, а также степени острого повреждения канальцев у пациентов с почечным ответом и без него. У больных с почечным ответом по сравнению с пациентами без улучшения функции почек площадь интерстициального фиброза меньше (соответственно 24,9 и 45,9%; $p=0,001$), а площадь экспрессии E-кадгерина больше (соответственно 15,9 и 7,1%; $p=0,006$). Фиброз интерстиция 40% и более и/или площадь экспрессии E-кадгерина менее 10% от площади тубулоинтерстиция имеют неблагоприятное прогностическое значение в достижении почечного ответа при МКН.

Заключение. При площади фиброза интерстиция 40% и более и площади экспрессии E-кадгерина менее 10% вероятность отсутствия почечного ответа составляет 93,3% (отношение шансов 24,5) даже при достижении гематологического ответа на индукционную терапию. Количество белковых цилиндров, распространенность острого повреждения канальцев и воспалительной инфильтрации интерстиция не имеют прогностического значения.

Ключевые слова: миеломная каст-нефропатия, острое повреждение почек, множественная миелома, морфометрия нефробиоптата.

Для цитирования: Рехтина И.Г., Казарина Е.В., Столяревич Е.С. и др. Морфологические и иммуногистохимические предикторы почечного ответа на терапию у пациентов с миеломной каст-нефропатией и острым повреждением почек с потребностью в диализе. Терапевтический архив. 2020; 92 (7): 63–69. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000776

Morphological and immunohistochemical predictors of renal response to therapy patients with myeloma cast nephropathy and dialysis-dependent acute kidney injury

I.G. Rekhtina¹, E.V. Kazarina¹, E.S. Stolyarevich^{2,3}, A.M. Kovrigina^{1,4}, V.N. Dvirnyk¹, S.M. Kulikov¹, L.P. Mendeleeva¹

¹National Research Center for Hematology, Moscow, Russia;

²Moscow City Nephrology Center, Moscow City Hospital 52, Moscow, Russia;

³Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia;

⁴Federal Research Clinical Center of Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies, Moscow, Russia

Aim. Reveal morphological and immunohistochemical predictors of reversibility of dialysis-dependent acute kidney injury (AKI) in patients with myeloma cast nephropathy (MCN) based on the study of kidney biopsy.

Materials and methods. Renal pathological findings were studied in 36 patients with MCN and dialysis-dependent stage 3 AKI (AKIN, 2012). The study of biopsy samples was performed by a semi-quantitative and quantitative analysis using computer morphometry. The expression of E-cadherin, vimentin and α -smooth muscle actin was determined immunohistochemically in the tubular cells and interstitium. Induction therapy for 26 patients was carried out to bortezomib-based programs; in 10 patients other schemes were used. A comparative analysis of morphological changes in nephropathy depending on the renal response was performed in patients with achieved hematologic remission.

Results. Improved renal function was observed only in patients with hematologic response to therapy. There were no differences in the number of sclerotic glomeruli, protein casts, the area of inflammatory interstitial infiltration, and the degree of acute tubular damage in patients with and without renal response. In patients with renal response compared with patients without improving renal function, the area of interstitial fibrosis was less (24.9% and 45.9%, respectively; $p=0.001$), and the area of E-cadherin expression was larger (15.9% and 7.1%, respectively; $p=0.006$). Interstitial fibrosis of 40% or more and/or the area of expression of E-cadherin less than 10% of the area of tubulo-interstitium have an unfavorable prognostic value in achieving a renal response in MCN.

Conclusion. If the interstitial fibrosis area is 40% or more and the expression area of E-cadherin is less than 10%, the probability of the absence of a renal response is 93.3% (OR=24.5) even when a hematological response to induction therapy is achieved. The number of protein casts, the prevalence of acute tubular damage and inflammatory interstitial infiltration have not prognostic value.

Keywords: myeloma cast nephropathy, acute kidney injury, multiple myeloma, nephropathy morphometry.

For citation: Rekhtina I.G., Kazarina E.V., Stolyarevich E.S., et al. Morphological and immunohistochemical predictors of renal response to therapy patients with myeloma cast nephropathy and dialysis-dependent acute kidney injury. *Therapeutic Archive*. 2020; 92 (7): 63–69. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000776

ИГХ – иммуногистохимия
ИФ/ТА – интерстициальный фиброз/тубулярная атрофия
Ме – медиана
МКН – миеломная каст-нефропатия
ММ – множественная миелома
ОПП – острое повреждение почек

ПО – почечный ответ
СКФ – скорость клубочковой фильтрации
СЛЦ – свободные легкие цепи иммуноглобулинов
ХБП – хроническая болезнь почек
α-ГМА – α-гладкомышечный актин

Введение

Миеломная каст-нефропатия (МКН) – основная причина острог о повреждения почек (ОПП) при множественной миеломе (ММ) [1, 2]. В 5–9% всех случаев впервые диагностированной ММ развивается ОПП с потребностью в заместительной почечной терапии [3, 4]. По данным Российского регистра, включающего с 2017 г. 2992 пациентов с ММ, в дебюте заболевания скорость клубочковой фильтрации (СКФ) менее 40 мл/мин выявлена у 22% больных. Из них у 42% больных отмечалось критическое снижение функции почек (СКФ < 15 мл/мин) и 23% уже получали заместительную почечную терапию [5].

МКН развивается вследствие избыточной секреции и экскреции с мочой моноклональных свободных легких цепей иммуноглобулинов (СЛЦ), которые оказывают прямое токсическое действие на клетки проксимального отдела и приводят к образованию цилиндров в дистальном отделе канальцев. Повреждение эпителия, наличие белковых цилиндров в совокупности с воспалительной инфильтрацией и отеком интерстиция составляют морфологические признаки МКН. Диагноз подтверждают иммунофлуоресцентным исследованием, доказывающим в составе цилиндров один изотип легких цепей (κ или λ) в соответствии с характером моноклональной секреции. Особенностью МКН является возможность чрезвычайно быстрого, в течение 2 мес, развития интерстициального фиброза и тубулярной атрофии (ИФ/ТА) – морфологического субстрата хронической болезни почек (ХБП) [6].

Токсическое действие моноклональных СЛЦ реализуется через активацию каспаз 3, 9, а также сигнальной апоптозрегулирующей киназы 1 (ASK1), что приводит к апоптозу клеток эпителия проксимальных отделов канальцев [7]. Повреждение дистального отдела развивается вследствие обструкции белковыми цилиндрами и повышения внутриканальцевого давления. Помимо апоптоза большое значение в формировании ИФ/ТА придает эпителиально-мезенхимальной трансформации клеток проксимального отдела канальцев. Ранее доказана выраженность этого процесса при МКН [8].

Улучшение функции почек при ОПП вследствие МКН наблюдаются чаще при степени редукции опухоли, соответствующей критериям гематологического ответа [9–12]. Ранее нами показано, что у пациентов с ОПП и потребностью в диализе для почечного ответа (ПО) важно также быстрое снижение содержания СЛЦ [6, 9]. Исключение составляют больные с дегидратацией, у которых функция почек может улучшиться после коррекции водного обмена до начала химиотерапии [13]. Однако даже при ранней эффективной редукции СЛЦ с применением экстракорпоральных методов функция почек при ОПП с потребностью в диализе улучшается не у всех, а лишь у 61–65% больных [14, 15]. При этом у большей части пациентов удается достигнуть лишь частичного или минимального ПО (СКФ < 60 мл/мин), что соответствует ХБП 3б/4-й стадии (критерий С, KDIGO) [6, 12, 16–18].

Причины несоответствия частоты гематологического ответа и ПО при МКН неясны. Также не определены морфологические предикторы обратимости ОПП при МКН. Имеющиеся данные по этому вопросу малочисленны, противоречивы и не позволяют сделать индивидуальный прогноз. Некоторые исследователи считают, что на почечный прогноз влияет число белковых цилиндров. Обратимость ОПП наблюдалась реже при количестве белковых цилиндров в нефробиоптате более 25 в 10 полях зрения [19]. Нам ранее показано, что важным прогностическим фактором в достижении ПО при МКН является выраженность ИФ/ТА. При фиброзе интерстиция 40% и более (по результатам количественного анализа методом компьютерной морфометрии) вероятность отсутствия ПО составляет 85% (при доверительном интервале 95%) даже при достижении гематологического ответа на индукционную противомиеломную терапию первой линии [13].

Цель исследования – изучить основные составляющие МКН у пациентов с тяжелым ОПП и оценить их прогностиче-

Сведения об авторах:

Рехтина Ирина Германовна – д.м.н., зав. отд-нием химиотерапии плазмноклеточных дискразий ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0001-5440-4340

Столяревич Екатерина Сергеевна – д.м.н., проф., патолого-анатомическое отд-ние ГБУЗ «ГКБ №52»; каф. нефрологии ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова». ORCID: 0000-0002-0402-8348

Ковригина Алла Михайловна – д.б.н., проф. каф. клинической лабораторной диагностики и патологической анатомии Академии последипломного образования ФГБУ ФНКЦ, зав. патолого-анатомическим отд-нием ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0002-1082-8659

Двирнык Валентина Николаевна – к.м.н., зав. центральной клинико-диагностической лаб. ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0002-9877-0796

Куликов Сергей Михайлович – к.т.н., зав. информационно-аналитическим отд. ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0001-8188-5557

Менделеева Лариса Павловна – д.м.н., проф., зам. ген. дир. по научной работе и инновациям ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0002-4966-8146

Контактная информация:

Казарина Евгения Валерьевна – врач-нефролог группы гемодиализа отд-ния реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии». Тел.: +7(903)543-21-66; e-mail: kazarina.ev@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9854-9354

Таблица 1. Характеристика пациентов

Показатель	Пациенты (n=36) число пациентов, % или Me (разброс значений)
Возраст, лет	58 (38–74)
Пол, м:ж	16:20
Парапротеин: PIgG/PIgA/PIgD/VJ	12 (33%)/3 (8%)/5 (15%)/16 (44%)
СЛЦ к/л	22 (61%)/14 (39%)
Среднее содержание моноклональных СЛЦ, мг/л	3310 (200–17 350)
Концентрация белка Бенс-Джонса в моче, г/л	1,26 (0,11–7,8)
Тип протеинурии канальцевый/клубочковый	29 (81%)/7 (19%)
Гистологическое исследование биоптата: МКН/сочетание с болезнью отложения легких цепей/сочетание с AL-амилоидозом	36 (100%)/6 (14%)/3 (9%)
Предшествующие нефротоксические факторы: Сопутствующие заболевания/применение нестероидных противовоспалительных препаратов/дегидратация/гиперкальциемия	21 (58%)/8 (36%)/3 (9%)/11 (31%)
Креатинин сыворотки в дебюте заболевания, мкмоль/л	1057 (398–2400)
СКФ, мл/мин/1,73 м ²	4 (2–11)
Нарушение водовыделительной функции почек (олигоурия или анурия)	16 (44%)
Время от начала гемодиализа до ПО, дни	84 (1–215)
Время от дебюта ОПП до начала терапии, дни	42 (8–88)
Время от установки диагноза ММ до начала терапии, дни	21 (7–72)
Время от начала химиотерапии до получения ПО, дни	74 (16–183)
Индукционная терапия Бортезомибсодержащие курсы/другие курсы	26 (72%)/10 (28%)
Гематологический ответ	24 (67%)
Полная ремиссия/очень хорошая частичная ремиссия/частичная ремиссия	4 (11%)/8 (22%)/6 (17%)
ПО	10 (28%)
Полный/частичный/минимальный	0 (0%)/3 (8%)/7 (20%)

ческое значение в ПО при эффективной индукционной противомиеломной терапии.

Материалы и методы

Пациенты. В исследование ретроспективно включены 36 пациентов с впервые установленной ММ, 3-й стадией ОПП по классификации AKIN [18] и гистологически подтвержденной МКН. Пункционная биопсия почки выполнялась до начала противомиеломной терапии. Диагноз ММ, противоопухолевый ответ и ПО устанавливали в соответствии с критериями Международной рабочей группы по изучению ММ (IMWG) [1]. СКФ рассчитывали по формуле СКД-EPI [20].

Характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в **табл. 1**.

Патоморфологическое исследование

Проспективно выполнен полуколичественный и количественный анализ нефробиоптатов. Степень острого повреждения канальцев, ИФ/ГА оценивали согласно общепринятой полуколичественной классификации. Выделяли 4 степени поражения: 0-я (отсутствие) – <10%, 1-я (легкая) – 10–25%, 2-я (умеренная) – 25–50%, 3-я (тяжелая) – >50% [21, 22]. Визуально подсчитывали полностью склерозированные клубочки (в процентах от общего количества клубочков), а также число белковых цилиндров в поле зрения. К белковым цилиндрам вследствие МКН относили фрагментирован-

ные PAS-негативные цилиндры в просветах канальцев с мультиядерной клеточной реакцией вокруг. Компьютерную морфометрию выполняли с помощью микроскопа Leica DM 1000LED, камеры Leica DFC 450 (формат захвата камеры 2560×1920 full frame HD) и цифрового модуля Leica Application Suite версии 4.11.0 (Германия). Рассчитывали процент фиброза интерстиция, а также процент площади клеточной воспалительной инфильтрации (КВИ) как отношение к площади интерстиция коркового вещества почки. Площадь интерстиция определяли по стандартной методике [23], модифицированной для пациентов с МКН [24].

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование нефробиоптатов с антителами к эпителиальному маркеру E-кадгерину, мезенхимальным маркерам – виментину и α -гладкомышечному актину (α -ГМА) выполнено 31 пациенту. Экспрессию всех маркеров в эпителии канальцев и интерстиции оценивали полуколичественно и количественно с помощью компьютерной морфометрии. Критерием состоявшейся эпителиально-мезенхимальной трансформации клеток эпителии канальцев считали экспрессию маркера мезенхимальной дифференцировки виментина более чем в 10% просветов канальцев [25, 26]. Отдельно подсчитывали число канальцев с интенсивной и слабой экспрессией E-кадгерина.

Для статистического анализа полученных данных использовали классические методы описательного и частотного анализа. Оценка прогностического потенциала количественных показателей проводилась с помощью

Таблица 2. Число склерозированных клубочков у пациентов с изолированной МКН и сочетанной патологией

	Пациенты (n=36)	Процент склерозированных клубочков, Ме
МКН	6	0 (0–25)
МКН + сопутствующие заболевания:	21	
Сахарный диабет	2	
Артериальная гипертензия	6	4,7 (0–85,7)
Хронический пиелонефрит	4	
Сочетание 2 и более заболеваний	9	
МКН + болезнь отложения легких цепей или МКН + AL-амилоидоз	9	2,3 (0–33,3)

логистического и ROC-анализа. Для выработки решающих правил прогноза и его графического представления использовался метод двумерного дискриминантного анализа. Статистический анализ выполнен с помощью программы SAS 9.4.

Результаты

Клинические данные

Гематологический ответ на первой линии индукционной терапии достигнут у 24 (67%) больных, из них ПО получен у 10. У 3 пациентов наблюдался частичный ПО, у 7 – минимальный. Важно отметить, что при отсутствии гематологического ответа ни у одного пациента ПО не достигнут.

Медиана времени от дебюта ОПП до начала противомиеломной терапии составила 42 дня (8–88). При начале химиотерапии до 4 нед от дебюта ОПП функция почек улучшилась у 89% больных, после 4 нед – лишь в 50% случаев ($p < 0,05$). У 64% пациентов химиотерапия начата через 4 нед и позже от диагностики ОПП.

Дополнительные факторы, ухудшающие функцию почек, такие как дегидратация, гиперкальциемия, прием нестероидных противовоспалительных препаратов, выявлены у 29 (81%) пациентов. Дегидратация диагностирована у 3 (7%) пациентов. После коррекции водного состояния у всех пациентов функция почек улучшилась до начала индукционной химиотерапии, они перестали нуждаться в проведении гемодиализа.

Результаты морфологических исследований

У 6 (17%) больных с изолированной МКН клубочки не изменены. Склероз клубочков выявлен у пациентов с сочетанием МКН и других парапротеинобуловленных нефропатий (болезнью отложения легких цепей или AL-амилоидозом) или сопутствующими заболеваниями (табл. 2).

Число белковых цилиндров существенно варьировало у разных пациентов (Ме 6,5 в поле зрения; 0,8–36,5). Корреляции между числом белковых цилиндров и содержанием белка Бенс-Джонса в сыворотке и моче не обнаружено ($r = 0,2$, $p = 0,223$).

У всех пациентов выявлены признаки как острого повреждения эпителия канальцев, так и ТА. У 23 (64%) больных признаки острого повреждения отмечались более чем в 25% от числа просветов канальцев, т.е. соответствовали 2-й степени. Распространенность канальцевой атрофии у 12 (38%) пациентов соответствовала 1-й степени (т.е. отмечалась в 10–25% канальцев), у 18 (56%) – 2-й (26–50% канальцев) и у 2 (6%) – 3-й степени (>50% канальцев). У 4 пациентов анализ ТА технически невозможен.

Медиана площади клеточной воспалительной инфильтрации составила 6,6% (0–22,6) от площади интерстиция.

ИФ/ТА 1-й степени выявлены у 13 (37%) больных, 2-й – у 20 (57%), 3-й – у 3 (6%) пациентов. При количественном

морфометрическом анализе медиана выраженности фиброза интерстиция во всей группе пациентов составила 26,1% (12,9–59). Не выявлено корреляционной связи между количественными показателями ИФ/ТА и числом цилиндров, выраженностью острого повреждения канальцев, клеточной воспалительной инфильтрацией.

Нами подтверждено, что экспрессия Е-кадгерина и виментина/ α -ГМА имеет противоположную направленность, т.е. клетки тубулярного эпителия одновременно не могут экспрессировать Е-кадгерин и виментин и/или α -ГМА (рис. 1, см. на цветной вклейке).

По результатам анализа экспрессии виментина у 84% пациентов диагностирована состоявшаяся эпителиально-мезенхимальная трансформация клеток эпителия почечных канальцев. У 16% пациентов с отсутствием эпителиально-мезенхимальной трансформации функция почек улучшилась.

При ИГХ-исследовании с Е-кадгеринном выявлена различная интенсивность его экспрессии почечными канальцами (рис. 2, см. на цветной вклейке).

Площадь интенсивной экспрессии Е-кадгерина составила 33,9% (9,1–62,5), площадь слабой экспрессии – 22,8% (6,9–54,3) от площади эпителия канальцев. Медиана площади экспрессии виментина составила 29,4% (6,3–57,7), α -ГМА – 39,5% (14,9–69,9). Выявлена прямая корреляционная связь между площадью тубулоинтерстиция, экспрессирующего виментин и α -ГМА ($r = 0,425$, $p = 0,017$), что подтверждает однонаправленность экспрессии мезенхимальных маркеров. Распространенность экспрессии Е-кадгерина прямо коррелировала с выраженностью острого повреждения канальцев ($R_s = 0,465$; $p = 0,017$).

Сопоставление клинических и морфологических результатов исследования

Проведено сравнение морфологических изменений в почках пациентов с гематологическим ответом на лечение в соответствии с ПО (табл. 3).

Количество склерозированных клубочков не различалось у больных с ПО и без него. Число белковых цилиндров оказалось равным. Острое повреждение канальцев выявлено во всех случаях, и его распространенность статистически значимо не влияла на ПО. Выделенные группы различались по степени ИФ/ТА. У пациентов с улучшением функции почек преобладала 1-я степень ТА. ТА 3-й степени определялась только у пациентов с отсутствием ПО на химиотерапию. Площадь фиброза интерстиция у больных с ПО меньше по сравнению с группой пациентов без улучшения функции почек (соответственно 24,9 и 45,9%; $p = 0,001$).

При ИГХ-исследовании распространенность экспрессии виментина и α -ГМА не различалась. В то же время площадь экспрессии Е-кадгерина у пациентов с ПО на терапию отмечена существенно больше, чем без ПО (соответственно

Таблица 3. Результаты исследования биоптатов почек у пациентов с МКН с гематологическим ответом на химиотерапию

Показатели число пациентов (%) или Me (разброс значений)	Пациенты с гематологическим ответом (n=17)		p
	с ПО (n=11)	без ПО (n=8)	
Склерозированные клубочки, %	4,8 (0–33,3)	3,5 (0–40)	0,84
Количество цилиндров в поле зрения	6,4 (1,3–36,5)	6,4 (4–31)	0,69
Площадь цилиндров от просвета канальцев, %	13,6 (2,9–58,4)	15,1 (4,9–77,5)	0,81
Степень ТА, %	1-я – 53	1-я – 17	0,03
	2-я – 47	2-я – 50	
	3-я – 0	3-я – 33	
Степень острого повреждения канальцев, %	1-я – 23	1-я – 33	0,876
	2-я – 53	2-я – 50	
	3-я – 24	3-я – 17	
Площадь клеточной воспалительной инфильтрации в поле зрения, %	2,6 (0–6,1)	1,6 (1,3–9,2)	0,45
Площадь клеточной воспалительной инфильтрации от площади интерстиция, %	6,3 (0–22,6)	4,7 (2,6–17,5)	0,156
Площадь фиброза интерстиция (полуколичественно), %	1-я степень – 50	1-я степень – 0	0,008
	2-я степень – 50	2-я степень – 71	
	3-я степень – 0	3-я степень – 29	
Площадь фиброза интерстиция, %	24,9 (12,9–39,3)	45,9 (19,1–59)	0,001
Экспрессия ИГХ-маркеров			
Доля канальцев, экспрессирующих Е-кадгерин, %	61,9 (47,8–82,1)	53,8 (9,1–74)	0,35
Доля канальцев, интенсивно экспрессирующих Е-кадгерин, %	32,6 (23,6–48,9)	40,6 (9,1–62,5)	0,624
Доля канальцев, слабоположительно экспрессирующих Е-кадгерин, %	26,9 (15,3–41,2)	11,5 (0–15,8)	0,002
Площадь экспрессии Е-кадгерина от площади тубулоинтерстиция, %	15,9 (5,4–24,8)	7,1 (4,2–12)	0,006
Площадь экспрессии виментина от площади тубулоинтерстиция, %	22,9 (6,3–43,9)	23,5 (11,1–48,4)	0,785
Площадь экспрессии α -ГМА от площади тубулоинтерстиция, %	33,5 (14,9–56,5)	47,5 (30,6–64,2)	0,24

15,9 и 7,1%; $p=0,006$). Это различие обусловлено большим числом канальцев со слабой экспрессией Е-кадгерина у пациентов с ПО.

Таким образом, морфологические различия в нефробиоптатах пациентов с ПО и без него различались только по площади ИФ/ТА и площади экспрессии Е-кадгерина. Между площадью экспрессии Е-кадгерина и фиброзом интерстиция статистически значимой корреляционной связи не установлено ($R_s=-0,335$, $p=0,065$).

С использованием двумерного дискриминантного анализа на группе пациентов с достигнутым гематологическим ответом ($n=24$) разработана прогностическая модель и создано логическое правило, которое определяет неблагоприятную группу по достижению ПО. При площади экспрессии Е-кадгерина менее 10% и/или площади фиброза интерстиция более 40% (от площади интерстиция) отношение шансов отсутствия ПО составляет 24,5; **рис. 3 (см. на цветной вклейке)**.

У пациентов с неблагоприятным прогнозом по ПО вероятность восстановления функции почек в 24 раза меньше, чем при благоприятном прогнозе. Сочетание двух параметров позволяет прогнозировать отсутствие ПО с вероятностью 93,3%.

Площадь экспрессии Е-кадгерина менее 10% выявлена у 42% пациентов. Фиброз интерстиция 40% и более установлен у 33% больных. В 5 (21%) случаях имелось сочетание площади экспрессии Е-кадгерина менее 10% и площади фиброза интерстиция больше 40%. Таким образом, согласно предложенной прогностической модели у 13 (54%) пациентов из анализируемой когорты улучшение функции почек

маловероятно, несмотря на эффективность противоопухолевой терапии.

Обсуждение

Ранняя диагностика МКН и эффективность терапии – основные факторы, определяющие обратимость ОПП. По нашим данным, время от дебюта ОПП до диагностики МКН и начала противоопухолевой терапии составило 42 (8–88) дня. В момент диагностики МКН у всех пациентов определялись ИФ/ТА, составляющие 26,1% (12,9–59) от площади тубулоинтерстиция, при этом у большей части (63%) пациентов ИФ/ТА соответствовали 2 и 3-й степени. ИФ/ТА – необратимый компонент повреждения почек, морфологический субстрат ХБП. Именно выраженностью ИФ/ТА можно объяснить отсутствие улучшения функции почек у пациентов с достигнутым гематологическим ответом на лечение, а также редкость полного ПО у этой категории пациентов. Малую частоту обратимости ОПП у пациентов с потребностью в диализе в реальной клинической практике подтверждают и другие исследователи [17]. По опубликованным данным, при общем гематологическом ответе 73,9% на бортезомибсодержащих программах терапии ПО составил лишь 23,5%. Время от момента повреждения почек до начала противомиеломной терапии составило 93,4 (41,7–145,1) дня [17]. Совершенно очевидно, что к моменту начала терапии у большей части пациентов было не ОПП, а ХБП.

Наряду с полуколичественным анализом нами выполнен точный подсчет структур почки с применением технологии

компьютерной морфометрии. Необходимость данного подхода обусловлена неточностью полуколичественного анализа. В частности, ИФ/ТА 2-й степени (25–50% пораженного тубулоинтерстиция) одинаково часто выявлялись у пациентов с ПО и без него. Проведенный количественный анализ позволил получить точные значения и выявить значимые различия в распространенности фиброза интерстиция внутри этого диапазона.

Результаты нашей работы показали, что число белковых цилиндров не имеет прогностического значения в ПО, хотя существует и противоположное мнение [19]. Мы не выполняли повторные биопсии почки после лечения. В этой связи неизвестно, у всех ли пациентов и в одинаковой ли степени резорбировались белковые цилиндры после проведенной терапии. В литературе представлены описания лишь 5 пациентов с МКН, которым выполняли повторные биопсии почки после терапии. Число белковых цилиндров уменьшалось, однако прогрессировал индекс хронического повреждения интерстиция (с 10 до 42%). У 1 пациента число цилиндров осталось прежним и функция почек не улучшилась [27]. В этой связи правомочно предположение, что резорбция белковых цилиндров после терапии может быть различной и влиять на ПО.

У всех пациентов наблюдались признаки острого повреждения канальцев, распространенность которого не различалась между сравниваемыми группами.

Для более точной характеристики состояния канальцев мы использовали ИГХ-исследование с основными маркерами, определяющими эпителиальную или мезенхимальную дифференцировку. Винентин в норме не экспрессируется клетками канальцев [28]. По нашим данным, экспрессия винентина более чем в 10% канальцев выявлена у 84% пациентов, что подтверждает выраженность этого процесса при МКН. Экспрессия α -ГМА в норме не должна определяться в структурах почки, наличие этого маркера свидетельствует о фибробластической трансформации [25, 29]. В нашем исследовании экспрессия α -ГМА составила 39,5% (14,9–69,9)

от площади тубулоинтерстиция, что подтверждает выраженность фенотипической необратимой трансформации эпителии тубулярных клеток. Е-кадгерин в здоровой почке экспрессируется преимущественно клетками эпителии дистальных канальцев и собирательных трубочек, минимально – в клетках проксимального отдела канальцев [29–31]. На основании разной интенсивности окрашивания мы различали проксимальный отдел канальцев (слабая экспрессия) и дистальный (интенсивная экспрессия). Нами показано, что сохраненная экспрессия Е-кадгерина в проксимальных канальцах является благоприятным фактором в достижении ПО на противомиеломную терапию. Отсутствие эпителиально-мезенхимальной трансформации эпителии канальцев – благоприятный признак обратимости ОПП при МКН.

Разработанная нами прогностическая модель на основе площади фиброза интерстиция и экспрессии Е-кадгерина позволяет с высокой точностью прогнозировать отсутствие ПО даже при эффективности индукционной терапии. Аналогичных работ по морфологическим предикторам ПО ранее не выполнялось.

Заключение

ИФ/ТА и площадь экспрессии Е-кадгерина – основные морфологические предикторы ПО при ОПП вследствие МКН. При площади фиброза интерстиция 40% и более и площади экспрессии Е-кадгерина менее 10% вероятность отсутствия ПО составляет 93,3% даже при эффективной индукционной терапии. В реальной клинической практике у 21% пациентов в момент диагностики ММ морфологические изменения в почках соответствуют терминальной стадии ХБП. Полученные данные объясняют различия в частоте гематологического ответа и ПО на противоопухолевую терапию.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15 (12):e538–e548. doi: 10.1016/S1470-2045 (14)70442-5
- Dimopoulos MA, Sonneveld P, Leung N, et al. International Myeloma Working Group Recommendations for the Diagnosis and Management of Myeloma-Related Renal Impairment. *J Clin Oncol.* 2016;34(13):1544–57. doi: 10.1200/JCO.2015.65.0044
- Bladé J, Fernández-Llana P, Bosch F, et al. Renal failure in multiple myeloma: Presenting features and predictors of outcome in 94 patients from a single institution. *Arch Int Med.* 1998;158(17):1889–93. doi: 10.1001/archinte.158.17.1889
- Yadav P, Cook M, Cockwell P. Current Trends of Renal Impairment in Multiple Myeloma. *Kidney Dis.* 2016;1(4):241–57. doi: 10.1159/000442511
- Mendeleeva LP, Solovov MV, Alexeeva A, et al. Multiple Myeloma in Russia (First Results of the Registration Trial). *Blood.* 2017;130(Suppl. 1):5408.
- Рехтина И.Г., Менделеева Л.П., Бирюкова Л.С. Диализзависимая почечная недостаточность у больных множественной миеломой: факторы обратимости. *Терапевтический архив.* 2015;87(7):72 [Rekhtina IG, Mendeleeva LP, Biryukova LS. Dialysis-dependent renal failure in patients with multiple myeloma: Reversibility factors. *Терапевтический архив.* 2015;87(7):72 (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh20158772-76
- Ying WZ, Wang PX, Sanders PW. Pivotal role of apoptosis signal-regulating kinase 1 in monoclonal free light chain-mediated apoptosis. *Am J Pathol.* 2012;180(1):41–7. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.09.017
- Hertig A, Bonnard G, Ulinski T, et al. Tubular nuclear accumulation of Snail and epithelial phenotypic changes in human myeloma cast nephropathy. *Human Pathol.* 2011;42(8):1142–8. doi: 10.1016/j.humpath.2010.11.006
- Рехтина И.Г., Менделеева Л.П., Варламова Е.Ю., Бирюкова Л.С. Сравнение эффективности бортезомибсодержащих программ в достижении раннего гематологического и почечного ответа у больных миеломной нефропатией с диализзависимой почечной недостаточностью. *Гематология и трансфузиология.* 2015;60(4):4–7 [Rekhtina IG, Mendeleeva LP, Varlamova EYu, Biryukova LS. Comparison of the efficiency of bortezomib-based protocols in induction of an early hematological and renal response in myeloma nephropathy patients with hemodialysis-dependent renal failure. *Gematologiya i transfuziologiya.* 2015;60(4):4–7 (In Russ.)].
- Ludwig H, Adam Z, Hajek R, et al. Light chain-induced acute renal failure can be reversed by bortezomib-doxorubicin-dexamethasone in multiple myeloma: results of a phase II study. *J Clin Oncol.* 2010;28(30):4635–41. doi: 10.1200/JCO.2010.28.1238
- Ludwig H, Rauch E, Kuehr T, et al. Lenalidomide and dexamethasone for acute light chain-induced renal failure: a phase II study. *Haematologica.* 2015;100(3):385–91. doi: 10.3324/haematol.2014.115204
- Dimopoulos MA, Roussou M, Gkotzamanidou M, et al. The role of novel agents on the reversibility of renal impairment in newly diagnosed

- symptomatic patients with multiple myeloma. *Leukemia*. 2013;27(2):423-9. doi: 10.1038/leu.2012.182
13. Рехтина И.Г., Казарина Е.В., Столяревич Е.С. и др. Прогностическое значение фиброза интерстиция в нефробиоптате в обратимости острого почечного повреждения при цилиндровой нефропатии у пациентов с множественной миеломой. *Нефрология и диализ*. 2019;21(3):312-9 [Rekhtina IG, Kazarina EV, Stolyarevich ES, et al. Interstitial fibrosis and outcomes of acute kidney injury in myeloma cast nephropathy. *Nefrologiya i dializ*. 2019;21(3):312-9 (In Russ.)]. doi: 10.28996/2618-9801-2019-3-312-319
 14. Hutchison CA, Bladé J, Cockwell P, et al.; International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group. Novel approaches for reducing free light chains in patients with myeloma kidney. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8(4):234-43. doi: 10.1038/nrneph.2012.14
 15. Bridoux F, Carron PL, Pegourie B, et al.; MYRE Study Group. Effect of High-Cutoff Hemodialysis vs Conventional Hemodialysis on Hemodialysis Independence among Patients with Myeloma Cast Nephropathy: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2017;318(21):2099-110. doi: 10.1001/jama.2017.17924
 16. Chanan-Khan AA, Kaufman JL, Mehta J, et al. Activity and safety of bortezomib in multiple myeloma patients with advanced renal failure: a multicenter retrospective study. *Blood*. 2007;109(6):2604-6. doi: 10.1182/blood-2006-09-046409
 17. Семочкин С.В., Желнова Е.И., Мисюрин Е.Н. и др. Клиническое значение восстановления функции почек у больных впервые диагностированной множественной миеломой, осложненной тяжелой и диализ-зависимой почечной недостаточностью. *Гематология и трансфузиология*. 2019;64(3):283-96 [Semochkin SV, Zhelnova EI, Misyurina EN, et al. Clinical importance of renal recover on outcomes of newly diagnosed multiple myeloma patients with severe and dialysis-dependent kidney failure. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2019;64(3):283-96 (In Russ.)]. doi: 10.35754/0234-5730-2019-64-3-283-296
 18. KDIGO. Kidney Disease: Improving Global Outcomes. CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl*. 2013;3(1):339. doi: 10.1038/kisup.2012.48
 19. Ecotièrre L, Thierry A, Debiais-Delpech C, et al. Prognostic value of kidney biopsy in myeloma cast nephropathy: A retrospective study of 70 patients. *Nephrol Dialys Transplant*. 2016;31(1):64-72. doi: 10.1093/ndt/gfv283
 20. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al.; CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Int Med*. 2009;150(9):604-12. doi: 10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006
 21. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 Classification of Renal Allograft Pathology: Updates and Future Directions. *Am J Transplant*. 2008;8(4):753-60. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02159.x
 22. Catran DC, Coppo R, Cook HT, et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: rationale, clinicopathological correlations, and classification. *Kidney Intl*. 2009;76(5):534-45. doi: 10.1038/ki.2009.243
 23. Ryan MT. Supplemental Digital Content. *Health Phys*. 2013;104(5):453. doi: 10.1097/HP.0b013e318287c86c
 24. Казарина Е.В., Рехтина И.Г., Столяревич Е.С. и др. Способ определения выраженности интерстициального фиброза почек при миеломной нефропатии. Патент РФ на изобретение №2686846/06.05.19 Бюл. №13 [Kazarina EV, Rekhtina IG, Stolyarevich ES, et al. Method for determining intensity of interstitial renal fibrosis in myeloma nephropathy Patent RF na izobretenie №2686846/06.05.19 Byul. №13 (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=37476505>
 25. Vongwiwatana A, Tasanarong A, Rayner DC, et al. Epithelial to mesenchymal transition during late deterioration of human kidney transplants: The role of tubular cells in fibrogenesis. *Am J Transplant*. 2005;5(6):1367-74. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.00843.x
 26. Galichon P, Hertig A. Epithelial to mesenchymal transition as a biomarker in renal fibrosis: are we ready for the bedside? *Fibrogen Tis Rep* 2011;4 (1):11. doi: 10.1186/1755-1536-4-11
 27. Basnayake K, Cheung CK, Sheaff M, et al. Differential progression of renal scarring and determinants of late renal recovery in sustained dialysis dependent acute kidney injury secondary to myeloma kidney. *J Clin Pathol*. 2010;63(10):884-7. doi: 10.1136/jcp.2010.079236
 28. Vanstherem D, Gossiaux A, Declèves AE, et al. Expression of nestin, vimentin, and NCAM by renal interstitial cells after ischemic tubular injury. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:193259. doi: 10.1155/2010/193259
 29. Чеботерева Н.В., Бобкова И.Н., Варшавский В.А. и др. Роль гладкомышечного α -актина в развитии фиброза почек у больных хроническим гломерулонефритом. *Терапевтический архив*. 2006;78(5):17-21 [Chebotereva NV, Bobkova IN, Varshavskij VA, et al. The role of smooth muscle α -phactin in development of renal fibrosis in patients with chronic glomerulonephritis. *Terapevticheskij Arhiv*. 2006;78(5):17-21 (In Russ.)].
 30. Burns WC, Thomas MC. The molecular mediators of type 2 epithelial to mesenchymal transition (EMT) and their role in renal pathophysiology. *Exp Rev Mol Med* 2010;12:e17. doi: 10.1017/S1462399410001481
 31. Hertig A, Verine J, Mougnot B, et al. Risk factors for early epithelial to mesenchymal transition in renal grafts. *Am J Transplant*. 2006;6(12):2937-46. doi: 10.1111/j.1600-6143.2006.01559.x

Поступила 13.04.2020

Трансплантация аутологичных стволовых клеток крови больным множественной миеломой, осложненной диализ-зависимой почечной недостаточностью

М.В. Фирсова, Л.П. Менделеева, М.В. Соловьев, И.Г. Рехтина, О.С. Покровская, Е.С. Урнова, Н.П. Соболева, В.Н. Двирнык, Г.А. Клясова, Л.А. Кузьмина, В.Г. Савченко

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель. Оценить безопасность и эффективность трансплантации аутологичных стволовых клеток (ауто-ТГСК) крови больным множественной миеломой (ММ) с диализ-зависимой почечной недостаточностью (ПН).

Материалы и методы. В ретроспективное исследование включены 14 больных ММ с диализ-зависимой ПН в возрасте от 48 до 65 лет, которым с мая 2010 по август 2018 г. выполнена ауто-ТГСК. После индукционного этапа лечения полная ремиссия, очень хорошая частичная ремиссия, частичная ремиссия документированы у 64, 29, 7% больных соответственно. Ни в одном случае почечный ответ не достигнут. Мобилизация стволовых кроветворных клеток у большинства больных (13/14) проводилась по схеме Г-КСФ 10 мкг/кг. В качестве предтрансплантационного кондиционирования использовался мелфалан в 3 дозировках: 100, 140 и 200 мг/м²; 13 больным выполнена однократная и в одном случае – тандемная ауто-ТГСК на фоне программного гемодиализа. Оценка противоопухолевого и почечного ответа проводилась на 100-й день после ауто-ТГСК.

Результаты. Период миелотоксического агранулоцитоза после ауто-ТГСК длился от 5 до 12 сут (медиана 8,5 дня) и сопровождался инфекционными эпизодами, кардиальной и неврологической дисфункциями. На +100-й день ауто-ТГСК полная ремиссия диагностирована в 71% случаев, очень хорошая частичная ремиссия – у 29% больных. Почечный ответ зарегистрирован у 2 (14%) больных, программный гемодиализ им отменен и возобновления заместительной почечной терапии не потребовалось в течение 24–100 мес после ауто-ТГСК. Летальность, связанная с трансплантацией, отсутствовала. При медиане наблюдения 53 мес 5-летняя выживаемость без прогрессии составила 59%, общая выживаемость – 93%.

Заключение. Проведение ауто-ТГСК больным с диализ-зависимой ПН способствовало достижению минимального почечного ответа в 14% случаев, что позволило прекратить выполнение гемодиализа этим пациентам. У больных, предтрансплантационное кондиционирование которым проведено с применением мелфалана в дозе 200 мг/м², отмечены более частые осложнения в раннем посттрансплантационном периоде по сравнению с пациентами, получившими меньшую дозу мелфалана (100–140 мг/м²). Ауто-ТГСК является эффективным методом лечения больных ММ с диализ-зависимой ПН, в ряде случаев способствующим достижению независимости от гемодиализа.

Ключевые слова: множественная миелома, трансплантация аутологичных стволовых клеток крови, острое повреждение почек, диализ-зависимая почечная недостаточность.

Для цитирования: Фирсова М.В., Менделеева Л.П., Соловьев М.В. и др. Трансплантация аутологичных стволовых клеток крови больным множественной миеломой, осложненной диализ-зависимой почечной недостаточностью. *Терапевтический архив.* 2020; 92 (7): 70–76. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000777

Autologous haematopoietic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma complicated by dialysis-dependent renal failure

M.V. Firsova, L.P. Mendeleeva, M.V. Solovjev, I.G. Rekhtina, O.S. Pokrovskaya, E.S. Urnova, N.P. Soboleva, V.N. Dvirnyk, G.A. Klyasova, L.A. Kuzmina, V.G. Savchenko

National Research Center for Hematology, Moscow, Russia

Aim. To assess the safety and efficacy of autologous haematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT) in multiple myeloma (MM) patients with dialysis-dependent renal failure.

Materials and methods. During a period from May 2010 to December 2016 fourteen MM patients with dialysis-dependent renal failure aged 48 to 65 years underwent auto-HSCT. After the induction therapy complete response, very good partial response, partial response were documented in 64, 29, 7% of patients, respectively. In no case was a renal response achieved. Haematopoietic stem cell mobilization in most patients (13/14) was performed according to the scheme: G-CSF 10 µg/kg. Melphalan in 3 dosages was used as pre-transplant conditioning: 100, 140 and 200 mg/m²; 13 patients underwent a single and in one case underwent a tandem auto-HSCT against the background of hemodialysis. Evaluation of the antitumor and renal response was assessed on the 100th day after auto-HSCT. Subsequently, against the background of programmed hemodialysis and in the setting of high-dosed melphalan (100–200 mg/m²), 13 patients underwent a single and one patient underwent a tandem auto-HSCT. At +100 days after auto-HSCT, an antitumor response and renal response were assessed.

Results. The period of agranulocytosis after auto-HSCT was from 5 to 12 days (median 8,5) and was accompanied by infectious complications, cardiac and neurological dysfunctions. At +100 days after auto-HSCT, the complete response was confirmed in 71% patients and very good partial response was confirmed in 29% patients. The minimal renal response was registered in 2 patients (14%), hemodialysis was stopped. The transplant-related mortality was absent. After a median follow-up of 53 months 5-year progression-free survival was 59%, and overall survival was 93%.

Conclusion. Carrying out auto-HSCT in patients with dialysis-dependent renal failure contributed to the achievement of a minimal renal response in 14% of cases, which allowed these patients to stop hemodialysis. Patients whose conditioning regimen was performed using melphalan at a dose of 200 mg/m² showed more frequent complications in the early post-transplant period compared to patients who received a lower dose of melphalan (100–140 mg/m²). Auto-HSCT in MM patients with dialysis-dependent renal failure is a feasible and effective treatment method, which in some cases contributes to independence from hemodialysis.

Keywords: multiple myeloma, autologous haematopoietic stem cell transplantation, acute kidney injury, dialysis-dependent renal failure.

For citation: Firsova M.V., Mendeleeva L.P., Solovov M.V., et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma complicated by dialysis-dependent renal failure. Therapeutic Archive. 2020; 92 (7): 70–76. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000777

Ауто-ТГСК – трансплантация аутологических стволовых клеток крови
ВБП – выживаемость без прогрессии
Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
ММ – множественная миелома
ОПП – острое повреждение почек
ОХЧР – очень хорошая частичная ремиссия
ПН – почечная недостаточность
ПР – полная ремиссия

СКФ – скорость клубочковой фильтрации
СЛЦ – свободные легкие цепи
ЧР – частичная ремиссия
AKIN – Группа экспертов по изучению острого почечного повреждения
IMWG – Международная рабочая группа по изучению множественной миеломы
RIFLE – риск, повреждение, недостаточность, утрата, терминальная стадия почечной недостаточности

Введение

Частота поражения почек в дебюте множественной миеломы (ММ) варьирует от 20 до 50%, при этом в 2–3% случаев требуется проведение заместительной почечной терапии [1, 2]. По данным Российского регистра, у 22% пациентов на момент диагностики ММ выявлено снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) < 40 мл/мин/м², при этом в 42% случаев СКФ составила менее 15 мл/мин [3].

Термин «острое повреждение почек» (ОПП) заменил ранее применявшееся понятие «острая почечная недостаточность» (ПН) ввиду необходимости стандартизации подходов к проблемам дисфункции почек. ОПП – это синдром нарастающего повреждения почек от минимальных изменений до полной утраты их функции. В 2004 г. рабочей группой Инициативы по улучшению качества острого диализа предложены параметры ОПП, названные критериями RIFLE (Risk –

risk, Injury – повреждение, Failure – недостаточность, Loss – утрата, End-stage renal failure – терминальная стадия ПН), в 2007 г. Группа экспертов по изучению острого почечного повреждения (Acute Kidney Injury Network – AKIN) ввела в практику классификацию, представляющую собой усовершенствованные критерии RIFLE [4, 5]. Согласно данным классификациям, выделяется 3 стадии ОПП. В 2012 г. Международной рабочей группой по улучшению глобальных исходов заболеваний почек разработаны критерии стадирования ОПП с учетом классификаций RIFLE и AKIN [6]. Важными параметрами являются не только повышение концентрации креатинина и снижение СКФ, но и степень нарастания сывороточного креатинина по сравнению с исходным, а также темп снижения диуреза.

Ввиду актуальности данной проблемы в 2009 г. создана Международная группа изучения почек и моноклональных гаммапатий, предложившая в 2012 г. новый термин: «моноклональная гаммапатия почечного значения» [7]. Это понятие объединяет гетерогенную группу нарушений функций почек вследствие нефротоксического воздействия моноклонального иммуноглобулина, при этом отсутствуют критерии, достаточные для диагностики симптоматической ММ. Причиной появления этого термина стали необходимость исключения данных состояний из группы «доброкачественной» моноклональной гаммапатии неопределенного значения и целесообразность отдельного подхода к их диагностике и лечению, так как моноклональная гаммапатия почечного значения ассоциирована с высокой смертностью вследствие тяжелого поражения почек.

Повреждение почек при ММ вызвано воздействием парапротеина или же обусловлено сопутствующей патологией. Основной причиной ОПП является цилиндровая нефропатия (миеломная каст-нефропатия) – 33–57% случаев [8, 9]. Другими причинами повреждения почек может быть AL-амилоидоз, болезнь отложения легких цепей, проксимальная тубулопатия, криоглобулинемический гломерулонефрит. Дегидратация, метаболические нарушения (повышение концентрации в крови кальция, мочевой кислоты, гиперпротеинемия), а также воздействие нефротоксических препаратов (нестероидных противовоспалительных средств, рентгенконтрастных препаратов, бисфосфонатов) усугубляет тяжесть повреждения почек [8, 10]. Среди причин, не ассоциированных с парапротеином, чаще всего наблюдаются такие состояния, как острый тубулярный некроз, атеросклероз,

Сведения об авторах:

Менделеева Лариса Павловна – д.м.н., проф., зам. ген. дир. по научной работе и инновациям, зав. отд. химиотерапии парапротеинемических гемобластозов. ORCID: 0000-0002-4966-8146

Соловьев Максим Валерьевич – к.м.н., зав. отд-нием интенсивной высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов. ORCID: 0000-0002-7944-6202

Рехтина Ирина Германовна – д.м.н., зав. отд-нием химиотерапии плазмноклеточных дискразий. ORCID: 0000-0001-5440-4340

Покровская Ольга Станиславовна – к.м.н., врач-гематолог отд-ния интенсивной высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов. ORCID: 0000-0002-8657-4990

Урнова Евдокия Сергеевна – к.м.н., врач-гематолог отд-ния интенсивной высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов. ORCID: 0000-0002-2206-6532

Соболева Наталья Павловна – врач централизованной клинико-диагностической лаборатории. ORCID: 0000-0002-1903-2446

Двирный Валентина Николаевна – к.м.н., зав. централизованной клинико-диагностической лаб. ORCID: 0000-0002-9877-0796

Клясова Галина Александровна – д.м.н., проф., зав. лаб. клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии. ORCID: 0000-0001-5973-5763

Кузьмина Лариса Анатольевна – к.м.н., зав. отд-нием интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами. ORCID: 0000-0001-6201-6276

Савченко Валерий Григорьевич – акад. РАН, проф., ген. дир. ORCID: 0000-0001-8188-5557

Контактная информация:

Фирсова Майя Валерьевна – к.м.н., науч. сотр. отд-ния интенсивной высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов. E-mail: firs-maia@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-4142-171X

обусловленный артериальной гипертензией, и диабетическая нефропатия [11]. Безусловно, встречаются и сочетанные формы поражения почек. Повреждение почек при ММ – явление потенциально обратимое. Морфологический вариант, степень тяжести повреждения почек, своевременность назначения противоопухолевой терапии – факторы, влияющие на восстановление почечной функции [12–15].

В эру стандартной химиотерапии ММ тяжелая ПН рассматривалась как прогностически неблагоприятный фактор, ассоциировавшийся с худшими показателями выживаемости [16]. Применение современной противоопухолевой терапии привело к повышению медианы общей выживаемости больных с тяжелой ПН с 19 мес до 2000 г. до 32 мес после 2005 г., однако диализ-зависимая ПН и в настоящее время ассоциирована с повышенным риском ранней смерти [17].

Ранее больные с терминальной стадией ПН не включались в клинические исследования, не рассматривались в качестве кандидатов на трансплантацию аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). С течением времени парадигма лечения больных ММ с диализ-зависимой ПН изменилась. Как известно, в качестве предтрансплантационного кондиционирования при ММ используются высокие дозы мелфалана, который метаболизируется в печени. В 1996 г. G. Tricot и соавт. опубликовали результаты исследования фармакокинетики мелфалана у 20 больных ММ, у 6 из которых СКФ < 40 мл/мин. Авторы изучили показатели фармакокинетики мелфалана после 1-го дня кондиционирования (100 мг/м²). Оказалось, что медиана периода полураспада и клиренса мелфалана сопоставимы как при СКФ < 40 мл/мин, так и при СКФ > 40 мл/мин. Авторы заключили, что фармакокинетика мелфалана не меняется в зависимости от клиренса креатинина, что свидетельствует о возможности назначения высоких доз препарата больным с терминальной стадией ПН [18].

В дальнейшем появились публикации, в которых указывалось, что высокодозная терапия мелфаланом с последующей ауто-ТГСК больным с ОПП III стадии с потребностью в диализе в ряде случаев способствует улучшению почечной функции [19, 20]. Также уточнялось, что у данной категории больных риск токсических осложнений и летальность, связанная с трансплантацией, выше в сравнении с больными без повреждения почек [21, 22]. Многоцентровых рандомизированных исследований, посвященных изучению безопасности и эффективности ауто-ТГСК больным ММ с диализ-зависимой ПН, нет. Международная рабочая группа по изучению ММ (IMWG) в 2016 г. разработала рекомендации по тактике ведения пациентов с поражением почек. Согласно рекомендациям выполнение ауто-ТГСК возможно пациентам – кандидатам на высокодозное лечение, с редуцированной дозы мелфалана до 100–140 мг/м² [1].

В настоящем исследовании представлен опыт выполнения ауто-ТГСК больным ММ с диализ-зависимой ПН в ФГБУ «НМИЦ гематологии».

Цель исследования – оценить безопасность и эффективность ауто-ТГСК больным ММ с диализ-зависимой ПН.

Материалы и методы

С мая 2010 по август 2018 г. 14 больным ММ с диализ-зависимой ПН (3 мужчины, 11 женщин) в возрасте от 48 до 65 лет (медиана 56,5 года) выполнена ауто-ТГСК. Диагноз устанавливали в соответствии с критериями IMWG 2014 г. [23]. Оценка противоопухолевого ответа проводилась согласно критериям IMWG 2006 г., для оценки почечного ответа использовали критерии IMWG 2010 г. [24, 25].

В табл. 1 представлена клинико-лабораторная характеристика пациентов в дебюте заболевания. В миелограмме отмечалось от 12 до 77% плазматических клеток (медиана 34,8%). У всех больных выявлена секреция свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов: у 9 пациентов – κ-типа, у 5 пациентов – λ-типа. У большинства больных (86%) установлена III стадия по Durie–Salmon. Медиана гемоглобина в дебюте заболевания составила 75,5 г/л, медиана лактатдегидрогеназы – 416 Е/л. β₂-Микроглобулин превышал 12 мг/л у всех больных, что обусловлено нарушением почечного фильтра. Содержание креатинина варьировало от 564 до 1787 мкмоль/л (медиана 1074 мкмоль/л). СКФ рассчитывалась по формуле СКД-ЕРІ и варьировала от 2 до 9 мл/мин/1,73 м² (медиана 3 мл/мин). Всем пациентам проводился программный гемодиализ 3 раза в неделю. Следует отметить, что медиана времени от старта гемодиализа до начала противоопухолевой терапии составила 40,5 дня.

Индукционная терапия включала бортезомибосодержащие схемы у всех больных, для углубления противоопухолевого ответа в 2 (14%) случаях применялась терапия препаратом 2-й линии – леналидомидом. После индукционного этапа лечения полная ремиссия (ПР) документирована у 64% больных, очень хорошая частичная ремиссия (ОХЧР) – у 29% пациентов, частичная ремиссия (ЧР) констатирована в 1 случае (7% больных). Почечный ответ ни в одном случае не достигнут, программный гемодиализ продолжался.

Возраст больных и достижение гематологического ответа позволили рассматривать этих пациентов в качестве кандидатов на проведение терапии высокими дозами мелфалана с последующим выполнением ауто-ТГСК, несмотря на зависимость от заместительной почечной терапии.

Мобилизация стволовых кроветворных клеток у 13 больных проводилась на стабильном состоянии кроветворения по схеме: гранулоцитарный колонистимулирующий фактор (Г-КСФ) 10 мкг/кг, в одном случае вводился циклофосфамид в дозе 2 г/м² с последующим применением Г-КСФ в дозе 10 мкг/кг. Медиана количества заготовленных CD34+ клеток составила 3,46 × 10⁶/кг. Двум пациентам потребовалось проведение повторной мобилизации стволовых кроветворных клеток в связи с недостаточным количеством заготовленных клеток, с использованием пликсасафора – в одном случае, с применением Г-КСФ в монорежиме – во втором случае. В качестве предтрансплантационного кондиционирования использовался мелфалан в 3 дозировках: 100, 140 и 200 мг/м². В 2010–2013 гг. у 4 больных доза мелфалана составляла 200 мг/м², в последующие годы всем больным, находящимся на программном гемодиализе, доза мелфалана редуцирована до 140 мг/м². В одном случае у пациента, перенесшего инфаркт миокарда на этапе индукции, доза мелфалана снижена до 100 мг/м².

Тринадцать больным выполнена однократная и в одном случае – тандемная ауто-ТГСК на фоне программного гемодиализа. В ранний посттрансплантационный период у всех пациентов тщательно мониторировались биохимические показатели, состояние кислотно-щелочного состава крови, корректировались электролитные нарушения. Оценка противоопухолевого и почечного ответа проводилась на 100-й день после ауто-ТГСК.

Результаты исследования подвергались статистической обработке с помощью программы Statistica (версия 10.0). Полученные данные оформлялись графически. Статистический анализ проведен с использованием анализа выживаемости (по методу Каплана–Мейера, с оценкой достоверности Log-Rank Test) и частотного анализа (с применением таблиц сопряженности и критерия Фишера).

Таблица 1. Характеристика больных ММ, осложненной диализ-зависимой ПН

Клинические параметры	Больные ММ с диализ-зависимой ПН (n=14)
Возраст, лет	56,5 (48–65)
Пол (м/ж)	3/11
Тип секреции	
А	2
G	2
D	2
M	1
VJ	7
Тип СЛЦ	
κ	9
λ	5
Стадия по Durie–Salmon	
II	2
III	12
Гемоглобин, г/л (медиана и разброс значений)	75,5 (55–113)
Лактатдегидрогеназа, Е/л (медиана и разброс значений)	416 (382–817)
β ₂ -Микроглобулин >12 мг/л	14/14
Креатинин, мкмоль/л (медиана и разброс значений)	1074 (564–1787)
СКФ, мл/мин/1,73 м ² (СКД-ЕРІ)	3 (2–9)
% плазматических клеток (медиана и разброс значений)	34,8 (12–77)
Время от начала гемодиализа до начала индукционной терапии, дни (медиана и разброс значений)	40,5 (3–267)
Схема мобилизации №1	
Циклофосфамид 2 г/м ² + Г-КСФ 10 мкг/кг	1
Г-КСФ 10 мкг/кг	13
Схема мобилизации №2	
Г-КСФ + плериксафор	1
Г-КСФ 10 мкг/кг	1
Количество CD34+ клеток (медиана и разброс значений)	3,38 (1,94–6,83)
Доза мелфалана, мг/м ²	
100	1
140	9
200	4

Результаты

Длительность миелотоксического агранулоцитоза варьировала от 5 до 12 сут (медиана 8,5 дня). Заместительная трансфузионная терапия тромбоконцентратом потребовались всем пациентам, трансфузии эритроцитной массы выполнялись 93% пациентов. Медиана примененных терапевтических доз тромбоконцентрата составила 4,8, эритроцитной взвеси – 2. Восстановление количества лейкоцитов перифе-

Таблица 2. Характеристика раннего посттрансплантационного периода у больных ММ с диализ-зависимой ПН

Осложнения	Частота
Инфекционные	
• стоматит	100% (14/14)
• некротическая энтеропатия	93% (13/14)
• пневмония	50% (7/14)
• сепсис	29% (4/14)
• герпес-вирусная инфекция	21% (3/14)
Кардиальные и неврологические	
• инфаркт миокарда	7% (1/14)
• трепетание предсердий	14% (2/14)
• повышение систолического артериального давления >200 мм рт. ст.	29% (4/14)
• энцефалопатия	21% (3/14)
Сроки восстановления показателей гемограммы, дни	
• лейкоциты >1×10 ⁹ /л	11,5 (8–16)
• тромбоциты >50×10 ⁹ /л	13 (10–26)
• длительность миелотоксического агранулоцитоза	8,5 (5–12)
Трансфузионная терапия	
Терапевтическая доза, медиана и разброс значений	
• трансфузия эритроцитной взвеси	2 (0–4)
• трансфузия тромбоконцентрата	4,8 (2,5–14,1)

рической крови более 1×10⁹/л отмечалось на 8–16-й день после ауто-ТГСК (медиана 11,5 дня), количество тромбоцитов более 50×10⁹/л зафиксировано на 10–26-й день (медиана 13 дней). Период миелотоксического агранулоцитоза после ауто-ТГСК сопровождался инфекционными осложнениями, кардиальной и неврологической дисфункцией (табл. 2). У всех больных констатировано развитие стоматита, у 93% пациентов отмечалась некротическая энтеропатия. Пневмония явилась частым осложнением и развилась у 50% больных. Септические осложнения и реактивация герпес-вирусной инфекции документированы в 29 и 21% случаев соответственно. Инфаркт миокарда констатирован у 1 больного, нарушения ритма по типу трепетания предсердий отмечены у 2 больных, стойкое повышение артериального давления документировано в 4 случаях. Токсическая энцефалопатия проявлялась в виде эпизодов дезориентации, спутанности сознания, резкого снижения критики и развилась у 3 пациентов. Возникшие осложнения купированы применением своевременной интенсивной сопроводительной терапии. На 100-й день после ауто-ТГСК оценена гематологический и почечный ответ (табл. 3). При анализе полученных данных выявлено углубление противоопухолевого ответа после проведенной трансплантации. Так, ПР диагностирована в 71% случаев (до трансплантации – 64%), ОХЧР – подтверждена в 29% случаев, ни в одном наблюдении ЧР не констатирована. В табл. 3 также представлена динамика увеличения СКФ у больных ММ в результате проводимой терапии. Так, медиана СКФ в дебюте заболевания составила 3 мл/мин, перед ауто-ТГСК увеличилась до

Таблица 3. Оценка гематологического и почечного ответа у больных ММ, осложненной ПН

Исследуемые параметры	Эффект терапии (частота)	
	перед ауто-ТГСК	100 дней после ауто-ТГСК
Гематологический ответ		
ПР	9/14 (64%)	10/14 (71%)
ОХЧР	4/14 (29%)	4/14 (29%)
ЧР	1/14 (7%)	–
Почечный ответ	0/14	2/14 (14%)
СКФ (СКД-ЕРІ), мл/мин/1,73 м ² , медиана и разброс значений	дебют 3 (2–9)	перед ауто-ТГСК 5 (4–10)

Таблица 4. Частота осложнений в раннем посттрансплантационном периоде в зависимости от дозы мелфалана

Осложнения	Доза мелфалана		P
	100–140 мг/м ² (n=10)	200 мг/м ² (n=4)	
Нарушения ритма сердца/инфаркт миокарда	1/10 (10%)	2/4 (50%)	0,5
Энцефалопатия	1/10 (10%)	2/4 (50%)	0,18
Пневмония	4/10 (40%)	3/4 (75%)	0,56

5 мл/мин, на сроке 100 дней после ауто-ТГСК – 7 мл/мин. Почечный ответ зарегистрирован у 2 (14%) больных, расценен как минимальный (СКФ до ауто-ТГСК составляла 10 и 9 мл/мин, после ауто-ТГСК – 17 и 16 мл/мин). Этим пациентам удалось прекратить программный гемодиализ. В случае отмены гемодиализа ни у одного больного заместительная почечная терапия не возобновлена в течение 24–100 мес.

При медиане наблюдения 53 мес 5-летняя выживаемость без прогрессии (ВБП) составила 59%, общая выживаемость – 93%. Летальность, связанная с трансплантацией, отсутствовала. В течение 1-го года после ауто-ТГСК погибла 1 больная вследствие сердечно-сосудистой недостаточности.

Обсуждение

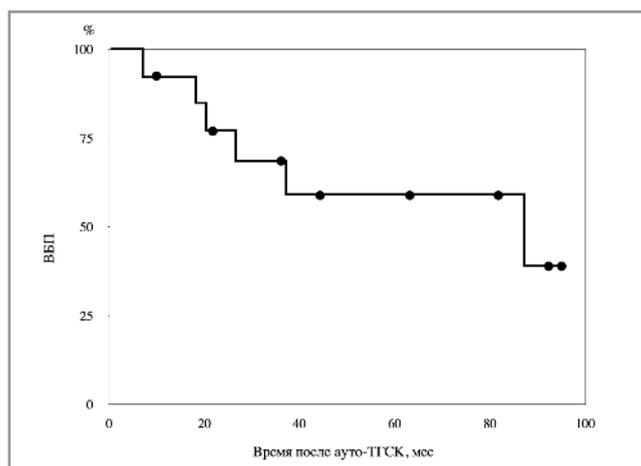
Восстановление функции почек при ММ зависит от ряда факторов, таких как генез повреждения почек, своевременность назначения специфической терапии, химиочувствительность опухоли [2]. По данным российских исследователей, при наличии цилиндрической нефропатии и ОПП III стадии почечный ответ возможен при достижении гематологического ответа. Авторы также показали, что неблагоприятным прогностическим фактором обратимости почечного повреждения является выраженный фиброз интерстиция в нефробиоптате (более 40%) [3]. Полное восстановление почечной функции при наличии болезни депозитов легких цепей, амилоидозе наблюдается редко. Результаты исследований свидетельствуют об улучшении состояния почек после высокодозной химиотерапии и ауто-ТГСК [26].

За последние 20 лет подходы к терапии больных ММ с ОПП III стадии с потребностью в диализе изменились. Опыт зарубежных коллег, основанный на результатах проведенных одноцентровых исследований, свидетельствует о возможности выполнения высокодозной химиотерапии с последующей ауто-ТГСК больным с диализ-зависимой ПН [21, 27, 28]. Тем не менее остаются дискуссионными некоторые вопросы – о частоте и спектре токсических осложнений после трансплантации у этой категории больных, влиянии высокодозного лечения на восстановление почечной функции, риске ранних летальных осложнений.

Использование высокодозного мелфалана с последующей ауто-ТГСК может нивелировать разницу в показателях выживаемости больных с нарушением и без нарушения почечной функции. Результаты исследования из Польши, опубликованные в 2018 г., свидетельствуют об отсутствии разницы в показателях противоопухолевого ответа, безрецидивной, общей выживаемости после ауто-ТГСК у больных с диализ-зависимой ПН и пациентов с нормальной функцией почек. При этом исследователи отметили, что у диализ-зависимых больных достоверно выше риск развития инфекций, потребности в трансфузиях эритроцитарной взвеси, назначения парентерального питания по сравнению с пациентами без ОПП [29].

С целью уменьшения частоты инфекционных и токсических осложнений больным ММ с ОПП III стадии доза мелфалана часто редуцируется до 100–140 мг/м², что согласуется с рекомендациями IMWG 2016 г. Так, в работе A. Vadros и соавт. показано, что в группе больных, получавших мелфалан 200 мг/м², достоверно чаще фиксировались мукозиты, пневмонии, аритмии, энцефалопатии по сравнению с пациентами, получавшими 140 мг/м² [22]. В исследовании, проведенном нами, также отмечено более частое развитие осложнений у пациентов, получивших дозу мелфалана 200 мг/м² (табл. 4). В исследовании французских авторов показано, что использование дозы мелфалана 140 мг/м² сопровождается достоверно лучшей ВБП, чем применение как более низкой (100 мг/м²), так и более высокой дозы (200 мг/м²) препарата [30].

В работах зарубежных коллег представлены убедительные сведения, свидетельствующие о возможности восстановления почечной функции после высокодозного лечения [20, 27, 28]. R. Bernard и соавт. в своем исследовании, опубликованном в 2015 г., сообщили, что 25% больным ММ прекращен гемодиализ после ауто-ТГСК [31]. В исследовании C. Lee и соавт. включены 59 пациентов с ММ, ауто-ТГСК которым выполнялась на фоне заместительной почечной терапии, прекратить гемодиализ удалось в 24% случаев. Авторы провели однофакторный анализ с целью поиска предикторов восстановления функции почки. Исследованы следующие факторы: изотип СЛЦ (κ и λ), противоопухолевый ответ до ауто-ТГСК (≥ЧР и <ЧР), дли-



ВВП больных ММ после ауто-ТГСК.

тельность гемодиализа до ауто-ТГСК (≤ 6 мес и > 6 мес), СКФ во время ауто-ТГСК (> 10 и ≤ 10 мл/мин), доза мелфалана (140 и 200 мг/м²) и ответ после ауто-ТГСК (ПР+ОХЧР и \leq ЧР). Авторы показали, что 3 параметра влияют на вероятность восстановления почечной функции: длительность гемодиализа до ауто-ТГСК ≤ 6 мес, СКФ во время ауто-ТГСК > 10 мл/мин и наличие глубокого противоопухолевого ответа (ПР+ОХЧР) после ауто-ТГСК [20].

В исследовании, проведенном нами, завершить программный гемодиализ удалось 14% (2/14) больным. Схожие результаты представила польская группа авторов – 3 (13%) из 24 больных после ауто-ТГСК прекращена заместительная почечная терапия [29].

У больных ММ с нарушением почечной функции летальность, связанная с осложнениями трансплантации, варьирует от 0 до 15%. Группа исследователей из Канады провела исследование эффективности и безопасности ауто-ТГСК у 33 больных ММ с диализ-зависимой ПН [31]. По данным этой работы летальность, связанная с трансплантацией, высокая и составила 15%. Исследователи обращают внимание на наличие корреляции между высокой частотой летальности в ранний посттрансплантационный период и глубиной противоопухолевого ответа перед ауто-ТГСК. Так, у 4 из 5 пациентов, погибших после ауто-ТГСК вследствие токсических осложнений, перед трансплантацией констатирована лишь стабилизация заболевания.

В 2019 г. авторы из этого же научного центра (г. Торонто, Канада) опубликовали данные нового исследования. Проанализированы результаты ауто-ТГСК, выполненной с 1998 по 2016 г. 96 пациентам с ММ, осложненной ОПП. Выбранный временной интервал включал в себя начало эры новых препаратов для лечения ММ. В связи с этим авторы разделили пациентов на 2 группы в зависимости от использования бортезомиба в индукционной терапии. В первую группу включены больные, не получавшие бортезомиб, им ауто-ТГСК выпол-

нена с 1998 по 2007 г.; во вторую группу – пациенты после индукционного лечения с применением бортезомиба, трансплантация которым выполнена с 2008 по 2016 г. Исследователи показали, что у больных первой группы значимо чаще возникали инфекционные и токсические осложнения по сравнению с пациентами второй группы. Также документированы достоверно более высокая частота противоопухолевого ответа и длительность ВВП в группе пациентов, трансплантация которым выполнена после 2008 г. Кроме того, летальность, связанная с трансплантацией, у больных первой группы составила 13%, в то время как у пациентов второй группы она отсутствовала. Авторы отмечают, что применение новых препаратов с биологическим механизмом действия, улучшение диагностических методик и сопроводительной терапии привели к улучшению показателей выживаемости больных, снижению риска токсических осложнений и летальности, связанной с трансплантацией [32]. Результаты исследования французской группы, опубликованного в 2018 г., свидетельствуют о том, что летальность, связанная с трансплантацией, в первые 100 дней после ауто-ТГСК у больных ММ с тяжелым поражением почек составила 6%. Для сравнения, данный показатель для пациентов ММ с нормальной функцией почек не превышает 1–3% [33, 34].

В проведенном нами исследовании летальность, связанная с трансплантацией, отсутствовала, хотя ранний посттрансплантационный период сопровождался тяжелыми осложнениями. Показатели 5-летней ВВП (см. рисунок) и общей выживаемости высоки и составляют 59 и 93% соответственно при медиане наблюдения 53 мес. Отсутствие летальности, связанной с трансплантацией, может быть объяснено не только селекцией больных, но и улучшением диагностических методик и сопроводительной терапии, своевременной и слаженной работой медперсонала.

Заключение

По результатам настоящего исследования проведение высокодозной терапии мелфаланом с последующей ауто-ТГСК больным ММ с диализ-зависимой ПН позволило улучшить противоопухолевый ответ (71% ПР, 29% ОХЧР) и достичь минимального почечного ответа в 14% случаев. Больным, у которых достигнут минимальный почечный ответ, прекращен гемодиализ, наблюдение за ними продолжается, потребность в проведении заместительной почечной терапии отсутствует в течение 24–100 мес. У больных, предтрансплантационное кондиционирование которым проведено с применением мелфалана в дозе 200 мг/м², отмечено более частое развитие кардиальной патологии, энцефалопатии, пневмонии по сравнению с пациентами, получившими меньшую дозу мелфалана (100–140 мг/м²).

Выполнение высокодозной химиотерапии с последующей ауто-ТГСК является эффективным и безопасным методом лечения больных ММ, осложненной ОПП III стадии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Dimopoulos MA, Sonneveld P, Leung N, et al. International Myeloma Working Group Recommendations for the Diagnosis and Management of Myeloma-Related Renal Impairment. *J Clin Oncol.* 2016;34(13):1544–57. doi: 10.1200/JCO.2015.65.0044
- Knudsen LM, Hjorth M, Hippe E. Renal failure in multiple myeloma: reversibility and impact on the prognosis. *Nordic Myeloma Study Group.* *Eur J Haematol.* 2000;65(3):175–81. doi: 10.1034/j.1600-0609.2000.90221.x
- Mendeleva LP, Solovev MV, Alexeeva A, et al. Multiple Myeloma in Russia (First Results of the Registration Trial). *Blood.* 2017;130(S1):5408.
- Lopes JA, Jorge S, Silva S, et al. Prognostic utility of the acute kidney injury network (AKIN) criteria for acute kidney injury in myeloablative

- haematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007;40(10):1005-6. doi: 10.1038/sj.bmt.1705860
5. Ando M, Mori J, Ohashi K, et al. Comparative assessment of the RIFLE, AKIN and conventional criteria for acute kidney injury after hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45(9):1427-34. doi: 10.1038/bmt.2009.377
 6. Kellum JA, Lameire N, Aspelin P, et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) acute kidney injury work group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int Suppl.* 2012;2(1):1-138. doi: org/10.1038/kisup.2012.1
 7. Leung N, Bridoux F, Hutchison CA, et al. Monoclonal gammopathy of renal significance: When MGUS is no longer undetermined or insignificant. *Blood.* 2012;120(22):4292-5. doi: 10.1182/blood-2012-07-445304
 8. Ecotièrre L, Thierry A, Debiais-Delpech C, et al. Prognostic value of kidney biopsy in myeloma cast nephropathy: A retrospective study of 70 patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(5):850. doi: 10.1093/ndt/gfw056
 9. Leung N, Nasr SH. Myeloma-related Kidney Disease. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2014;21(1):36-47. doi: 10.1053/j.ackd.2013.08.009
 10. Mussap M, Merlini G. Pathogenesis of renal failure in multiple myeloma: any role of contrast media? *Biomed Res Int.* 2014;2014:167125. doi: 10.1155/2014/167125
 11. Nasr SH, Valeri AM, Sethi S, et al. Clinicopathologic correlations in multiple myeloma: a case series of 190 patients with kidney biopsies. *Am J Kidney Dis.* 2012;59(6):786-94. doi: 10.1053/j.ajkd.2011.12.028
 12. Hutchison CA, Bradwell AR, Cook M, et al. Treatment of acute renal failure secondary to multiple myeloma with chemotherapy and extended high cut-off hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(4):745-54. doi: 10.2215/CJN.04590908
 13. Бирюкова Л.С., Рехтина И.Г., Менделеева Л.П. Диализзависимая почечная недостаточность у больных множественной миеломой: факторы обратимости. *Терапевтический архив.* 2015;87(7):72-6 [Biryukova LS, Rehtina IG, Mendeleeva LP. Dialysis-dependent Renal Failure in Patients With Multiple Myeloma: Reversibility Factors. *Therapeutic Archive.* 2015;87(7):72-6 (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh20158772-76
 14. Roussou M, Kastritis E, Migkou M, et al. Treatment of patients with multiple myeloma complicated by renal failure with bortezomib-based regimens. *Leuk Lymphoma.* 2008;49(5):890-5. doi: 10.1080/10428190801930506
 15. Ecotièrre L, Thierry A, Debiais-Delpech C, et al. Prognostic value of kidney biopsy in myeloma cast nephropathy: a retrospective study of 70 patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(1):64-72. doi: 10.1093/ndt/gfv283
 16. Augustson BM, Begum G, Dunn JA, et al. Early mortality after diagnosis of multiple myeloma: analysis of patients entered onto the United Kingdom Medical Research Council trials between 1980 and 2002 – Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party. *J Clin Oncol.* 2005;23(36):9219-26. doi: 10.1200/JCO.2005.03.2086
 17. Dimopoulos MA, Delimpasi S, Katodritou E, et al. Significant improvement in the survival of patients with multiple myeloma presenting with severe renal impairment after the introduction of novel agents. *Ann Oncol.* 2014;25(1):195-200. doi: 10.1093/annonc/mdt483
 18. Tricot G, Alberts DS, Johnson C, et al. Safety of autotransplants with high-dose melphalan in renal failure: a pharmacokinetic and toxicity study. *Clin Cancer Res.* 1996;2(6):947-52.
 19. Bird JM, Fuge R, Sirohi B, et al. The clinical outcome and toxicity of high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation in patients with myeloma or amyloid and severe renal impairment: a British society of blood and marrow transplantation study. *Br J Haematol.* 2006;134(4):385-90. doi: 10.1111/j.1365-2141.2006.06191.x
 20. Lee C-K, Zangari M, Barlogie B, et al. Dialysis-dependent renal failure in patients with myeloma can be reversed by high-dose myeloablative therapy and autotransplant. *Bone Marrow Transplant.* 2004;33(8):823-8. doi: 10.1038/sj.bmt.1704440
 21. Knudsen LM, Nielsen B, Gimsing P, Geisler C. Autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: outcome in patients with renal failure. *Eur J Haematol.* 2005;75(1):27-33. doi: 10.1111/j.1600-0609.2005.00446.x
 22. Badros A, Barlogie B, Siegel E, et al. Results of autologous stem cell transplantation in multiple myeloma patients with renal failure. *Br J Haematol.* 2001;114(4):822-9. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.03033.x
 23. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):e538–e548. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5
 24. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al. International Myeloma Working Group (2006). International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia.* 2006;20(9):1467-73. doi: 10.1038/sj.leu.2404284
 25. Dimopoulos MA, Terpos E, Chanan-Khan A, et al. Renal impairment in patients with multiple myeloma: a consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol.* 2010;28(33):4976-84. doi: 10.1200/JCO.2010.30.8791
 26. Comenzo RL, Vosburgh E, Falk RH, et al. Dose-intensive melphalan with blood stem-cell support for the treatment of AL (amyloid light-chain) amyloidosis: survival and responses in 25 patients. *Blood.* 1998;91(10):3662-70.
 27. Tosi P, Zamagni E, Ronconi S, et al. Safety of autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma and chronic renal failure. *Leukemia.* 2000;14(7):1310-3. doi: 10.1038/sj.leu.2401819
 28. Parikh GC, Amjad AI, Saliba RM, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation may reverse renal failure in patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15(7):812-6. doi: 10.1016/j.bbmt.2009.03.021
 29. Waszczuk-Gajda A, Lewandowski Z, Drozd-Sokołowska J, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation in dialysis-dependent multiple myeloma patients-DAUTOS Study of the Polish Myeloma Study Group. *Eur J Haematol.* 2018;101(4):475-85. doi: org/10.1111/ejh.13101
 30. Augeul-Meunier K, Chretien ML, Stoppa AM, et al. Extending autologous transplantation as first line therapy in multiple myeloma patients with severe renal impairment: a retrospective study by the SFGM-TC. *Bone Marrow Transplantation.* 2018;53(6):749-55. doi: 10.1038/s41409-018-0122-8
 31. St Bernard R, Chodirker L, Masih-Khan E, et al. Efficacy, toxicity and mortality of autologous SCT in multiple myeloma patients with dialysis-dependent renal failure. *Bone Marrow Transplantation.* 2015;50(1):95-9. doi: 10.1038/bmt.2014.226
 32. Li AY, Atenafu EG, Bernard RS, et al. Toxicity and survival outcomes of autologous stem cell transplant in multiple myeloma patients with renal insufficiency: an institutional comparison between two eras. *Bone Marrow Transplantation.* 2020;55(3):578-85. doi: 10.1038/s41409-019-0697-8
 33. Cavo M, Tosi P, Zamagni E, et al. Prospective, randomized study of single compared with double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma: Bologna 96 clinical study. *J Clin Oncol.* 2007;25(17):2434-41. doi: 10.1200/JCO.2006.10.2509
 34. Mai EK, Benner A, Bertsch U, et al. Single versus tandem high-dose melphalan followed by autologous blood stem cell transplantation in multiple myeloma: long-term results from the phase III GMMG-HD2 trial. *Br J Haematol.* 2016;173(5):731-41. doi: 10.1111/bjh.13994

Поступила 13.04.2020

Результаты открытого многоцентрового клинического исследования Ib фазы по оценке безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики первого биоаналога экулизумаба у нелеченых пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией в фазе индукции терапии

В.В. Птушкин¹, А.Д. Кулагин², Е.А. Лукина³, И.Л. Давыдкин⁴, Т.С. Константинова⁵, В.С. Шамрай⁶, Н.В. Минаева⁷, Д.А. Кудлай⁸, Е.В. Гапченко⁸, О.А. Маркова⁸, А.Ю. Борозинец⁸

¹ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия;

⁵ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница №1», Екатеринбург, Россия;

⁶ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону, Россия;

⁷ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России, Киров, Россия;

⁸АО «ГЕНЕРИУМ», Москва, Россия

Резюме

В настоящее время основным патогенетическим методом лечения пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ) является терапия рекомбинантными моноклональными антителами, блокирующими C5-компонент системы комплемента. Экулизумаб – первый биотехнологический лекарственный препарат, являющийся моноклональным антителом, с доказанной клинической эффективностью и безопасностью для лечения больных ПНГ, который используется в мировой клинической практике. В России в рамках реализации государственной программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» на 2013–2020 гг. разработан препарат Элизария (АО «ГЕНЕРИУМ») – первый биоаналог оригинального препарата экулизумаб.

Цель. Изучение фармакокинетических и фармакодинамических показателей, а также параметров безопасности и иммуногенности препарата Элизария в фазе индукции терапии у ранее не леченных больных ПНГ.

Материалы и методы. В исследование включены 11 пациентов с ПНГ в возрасте от 26 до 75 лет, ранее не получавших экулизумаб. Каждому из участников исследования вводили исследуемый препарат Элизария в дозе 600 мг внутривенно капельно один раз в неделю в течение 4 нед.

Результаты. В ходе клинического исследования отмечено, что концентрация исследуемого препарата значительно увеличивается к моменту окончания инфузии и далее постепенно снижается до минимума в конце интервала дозирования. Средние значения концентрации экулизумаба за 5 мин до введения исследуемого препарата на всех визитах превышали 35 мкг/мл, минимальную концентрацию, достаточную для полного ингибирования внутрисосудистого гемолиза у больных ПНГ. Фармакодинамическая эффективность препарата Элизария подтверждалась снижением концентрации мембраноатакующего комплекса (МАК) после окончания первой инфузии препарата с поддержанием ее на стабильных уровнях до визита 5. Стойкое снижение концентрации МАК и четырехкратное снижение средних значений лактатдегидрогеназы к визиту 5 с 1286,4 до 280,9 Ед/л продемонстрировало выраженное снижение активности и стабилизацию гемолитического процесса в результате индукции терапии препаратом Элизария в дозе 600 мг один раз в неделю и подтверждало эффективность исследуемого препарата. Из 9 нежелательных явлений только 5 имели связь с применением исследуемого препарата, включая одно серьезное – в виде аллергической реакции, имевшее, по мнению исследователя, возможную причинно-следственную связь с инфузией исследуемого препарата. У 2 больных выявлены связывающие антилекарственные антитела в низком титре без нейтрализующей активности во время лечения исследуемым препаратом, что может свидетельствовать о его низкой иммуногенности.

Заключение. В ходе исследования оценены фармакокинетические и фармакодинамические свойства препарата Элизария в режиме индукции терапии у ранее не леченных больных ПНГ, подтверждающие его эффективность. В исследовании продемонстрированы безопасность и низкая иммуногенность исследуемого препарата.

Ключевые слова: пароксизмальная ночная гемоглобинурия, система комплемента, экулизумаб, Элизария, безопасность, фармакокинетика, фармакодинамика.

Для цитирования: Птушкин В.В., Кулагин А.Д., Лукина Е.А. и др. Результаты открытого многоцентрового клинического исследования Ib фазы по оценке безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики первого биоаналога экулизумаба у нелеченых пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией в фазе индукции терапии. *Терапевтический архив.* 2020; 92 (7): 77–84. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000818

Results of phase Ib open multicenter clinical trial of the safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of first biosimilar of eculizumab in untreated patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria during induction of therapy

V.V. Ptushkin¹, A.D. Kulagin², E.A. Lukina³, I.L. Davydkin⁴, T.S. Konstantinova⁵, V.S. Shamrai⁶, N.V. Minaeva⁷, D.A. Kudlay⁸, E.V. Gapchenko⁸, O.A. Markova⁸, A.Yu. Borozinets⁸

¹Botkin City Clinical Hospital, Moscow, Russia;

²Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

³National Hematology Medical Research Center, Moscow, Russia;

⁴Samara State Medical University, Samara, Russia;

⁵Sverdlovsk Regional Clinical Hospital №1, Yekaterinburg, Russia;

⁶Rostov Regional Clinical Hospital, Rostov-on-Don, Russia;

⁷Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, Russia;

⁸JSC GENERIUM, Moscow, Russia

Currently, the main pathogenetic method for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is the treatment with recombinant monoclonal antibodies that block the C5 component of the complement system. Eculizumab is the first biotechnological drug, which is a monoclonal antibody, with proven clinical efficacy and safety for the treatment of patients with PNH, which is used in world clinical practice. In Russia, in the framework of the state program "Development of the pharmaceutical and medical industry" for 2013–2020 was developed Elizaria (JSC GENERIUM) – the first biosimilar of the original drug eculizumab.

Aim. To evaluate the pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters, as well as safety and immunogenicity parameters of the drug Elizaria in the induction phase of therapy in previously untreated patients with PNH.

Materials and methods. The study included 11 patients with PNH aged 26 to 75 years who had not previously received eculizumab. Each of the study participants was injected with the studied drug Elizaria at a dose of 600 mg intravenously once a week for 4 weeks.

Results. During the clinical study, it was noted that the concentration of the studied drug significantly increased by the time the infusion was completed and then gradually decreased to a minimum at the end of the dosing interval. The average concentration of eculizumab 5 minutes before the administration of the study drug at all visits exceeded 35 µg/ml, the minimum concentration sufficient to completely inhibit intravascular hemolysis in patients with PNH. The pharmacodynamic efficacy of the drug Elizaria was confirmed by a decrease in the concentration of the membrane-attack complex (MAC) after the first infusion of the drug was maintained at stable levels until visit 5. A persistent decrease in the level of MAC and a four-fold decrease in the average values of lactate dehydrogenase to visit 5 from 1286.4 to 280.9 U/l demonstrated a marked decrease in activity and stabilization of the hemolytic process against the background of the induction of therapy with Elizaria at a dose of 600 mg once a week and confirmed the efficacy of the study drug. Among the 9 adverse events, only 5 had a relationship with the studied drug, including one serious adverse event – in the form of an allergic reaction, which, according to the researcher, had a possible cause-effect relationship with the infusion of the studied drug. In 2 patients, low-titer binding anti-drug antibodies were detected without neutralizing activity during treatment with the studied drug, which may indicate its low immunogenicity.

Conclusion. The study evaluated the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of the drug Elizaria in the regimen of induction therapy in previously untreated patients with PNH, confirming its efficacy. The study demonstrated the safety and low immunogenicity of the study drug.

Key words: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, complement system, eculizumab, Elizaria, safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics.

For citation: Ptushkin V.V., Kulagin A.D., Lukina E.A., et al. Results of phase Ib open multicenter clinical trial of the safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of first biosimilar of eculizumab in untreated patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria during induction of therapy. *Therapeutic Archive*. 2020; 92 (7): 77–84. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000818

АЛА – антилекарственные антитела
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
МАК – мембраноатакующий комплекс
НЯ – нежелательное явление
ПНГ – пароксизмальная ночная гемоглобинурия

СНЯ – серьезное нежелательное явление
ФД – фармакодинамический
ФК – фармакокинетический
Ig – иммуноглобулин

Введение

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) – редкое приобретенное жизнеугрожающее клональное заболевание крови, развивающееся в результате экспансии одного или нескольких клонов гемопоэтических стволовых кроветворных клеток с соматической мутацией и характеризующееся хроническим внутрисосудистым гемолизом, костномозговой недостаточностью, повышенным риском развития тромботических осложнений, почечной недостаточности и легочной гипертензии. Развитие ПНГ обусловлено соматической мутацией в X-сцепленном гене фосфатидилинозитол гликана класса А (PIG-A), приводящей к дефициту гликозилфосфатидилинозитоловой «якорной» структуры (GPI-связанных белков), которая осуществляет фиксацию широкого спектра белков на мембранах клеток крови, в том числе ингибиторов комплемента [1–3]. В результате развивается дефицит или отсутствие на поверхности клеток крови, связанных GPI-якорем с мембраной клеток ингибиторов комплемента – CD55, блокирующего активацию C3-конвертазы комплемента, и CD59, блокирующего формирование мембраноатакующего комплекса (МАК), что приводит к комплементзависимому лизису эритроцитов, активации тромбоцитов, провоспалительным и протромботическим эффектам [4, 5]. Клинические проявления и прогноз ПНГ у взрослых и детей детально охарактеризованы в крупных когортных исследованиях в России [6, 7].

В течение многих лет терапевтическая тактика при ПНГ имела ограниченные возможности. Прорывом в лечении стало применение патогенетической терапии моноклональным антителом экулизумаб, блокирующим белок комплемента C5. В настоящее время патогенетическая антикомплемментарная терапия и трансплантация аллогенного костного мозга являются основными эффективными методами лечения классической ПНГ [1, 2, 8].

Гуманизированное моноклональное антитело экулизумаб эффективно блокирует терминальный этап активации системы комплемента, связываясь с C5-компонентом, и одобрено во многих странах для таргетного патогенетического лечения ПНГ [9–11]. Экулизумаб обладает очень хорошим профилем безопасности при длительном применении и позволяет значительно снизить частоту осложнений и смертность пациентов с ПНГ [2]. Однако преимущества применения экулизумаба в лечении больных ПНГ связаны с существенными экономическими затратами, которые могут ограничивать его использование [12, 13].

В Российской Федерации в рамках реализации государственной программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» на 2013–2020 гг. для увеличения производства и обеспеченности жизненно необходимыми и важнейшими отечественными лекарственными средствами [14] российской биотехнологической компанией ООО «МБЦ «Генериум» была начата разработка биоаналогичного препарата Элизария (экулизумаб) для

лечения ПНГ, проводимая в соответствии с международными требованиями [15–17].

В ходе разработки препарата проведены сравнительные доклинические исследования, которые продемонстрировали отсутствие токсичности и хорошую переносимость препарата Элизария, а также его сопоставимость с оригинальным препаратом по показателям качества [18]. Полученные результаты доклинических исследований стали основанием для проведения дальнейших клинических исследований [19].

Цель исследования – оценка безопасности, фармакокинетики (ФК) и фармакодинамических (ФД) параметров препарата Элизария (АО «ГЕНЕРИУМ», Россия) у ранее не леченных пациентов с ПНГ в фазе индукции терапии.

Материалы и методы

Открытое проспективное несравнительное исследование безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики препарата Элизария у ранее не леченных пациентов с ПНГ 1b фазы (ECU-PNH-1b) одобрено Минздравом России 14.08.2018 (разрешение №414) и проведено на базе 7 исследовательских центров. В исследование планировалось включение больных ПНГ мужского и женского пола в возрасте от 18 до 75 лет, подписавших информированное согласие на участие в исследовании и соответствовавших основным критериям включения в исследование:

1. Установленный диагноз ПНГ, подтвержденный результатами проточной цитометрии по оценке размера ПНГ-клона эритроцитов и лейкоцитов [20], с внутрисосудистым гемолизом и сопутствующими клиническими симптомами в настоящее время или в анамнезе, вне зависимости от потребности в гемотрансфузиях, и без признаков других заболеваний, связанных с недостаточностью костного мозга.
2. Отсутствие ранее лечения экулизумабом или прекращение терапии экулизумабом в течение не менее 70 дней до первого введения исследуемого препарата.

Сведения об авторах:

Кулагин Александр Дмитриевич – д.м.н, проф. каф. гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Первый СПб ГМУ им. акад. И.П. Павлова». ORCID: 0000-0002-9589-4136

Лукина Елена Алексеевна – д.м.н., проф., зав. отд. орфанных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0002-8774-850X

Давыдкин Игорь Леонидович – д.м.н., проф., проректор по научной работе ФГБОУ ВО СамГМУ. ORCID: 0000-0003-0645-7645

Константинова Татьяна Семеновна – к.м.н., зав. отд. ГБУЗ «СОКБ №1». ORCID: 0000-0003-4687-0784

Шамрай Владимир Степанович – зав. отд-нием ГБУ РОКБ. ORCID: 0000-0002-3254-4788

Минаева Наталья Викторовна – зам. дир. по лечебной работе. ФГБУН «КНИИ гематологии и переливания крови». ORCID: 0000-0002-8479-3217

Кудлай Дмитрий Анатольевич – д.м.н., проф., ген. дир. АО «ГЕНЕРИУМ». ORCID: 0000-0003-1878-4467

Гапченко Елена Васильевна – зам. ген. дир. АО «ГЕНЕРИУМ» по вопросам клинических исследований, фармаконадзора и регистрации. ORCID: 0000-0002-6817-5531.

Маркова Оксана Анатольевна – нач. науч. отд. АО «ГЕНЕРИУМ». ORCID: 0000-0002-1179-3881

Борозинец Антон Юрьевич – к.м.н., мед. советник АО «ГЕНЕРИУМ». ORCID: 0000-0002-4863-8471

3. Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) на скрининге, превышающая в 1,5 раза и более верхнюю границу нормы.

4. Стабильная доза антикоагулянтов в течение как минимум 4 нед до начала скрининга в случае их применения.

Средний период полувыведения оригинального препарата Солирис составляет около 11,3 дня [21]. В случае наличия опыта предшествующего применения экулизумаба «отмывочный» период длительностью более 6 периодов полувыведения составлял не менее 67,8 дня. В связи с этим пациент расценивался как ранее не леченный после «отмывочного» периода 70 дней от момента последнего введения оригинального препарата, что гарантированно исключало возможность воздействия предыдущего лечения и позволяло оценить степень взаимосвязи между суммарными концентрациями экулизумаба в сыворотке и гемолитической активностью системы комплемента.

В исследование не включались больные с заболеваниями, связанными с недостаточностью костного мозга при наличии ПНГ-клона (апластическая анемия, миелодиспластический синдром, первичный идиопатический миелофиброз); наследственными болезнями комплемента; синдромом приобретенного иммунодефицита; участники других клинических исследований лекарственного препарата Элизария); с гиперчувствительностью к исследуемому препарату, его компонентам, а также действующим веществам и компонентам вакцины для профилактики менингококковых инфекций; перенесенными в прошлом инфекционными заболеваниями, вызванными микроорганизмами *Neisseria meningitidis*.

Пациент мог быть исключен в ходе исследования по следующим причинам: развитие 2 явлений и более токсичности 3-й степени тяжести или 1 явления и более токсичности 4-й степени тяжести по критериям STCAE 5.0, по мнению исследователя, связанных с применением исследуемого препарата; выявление онкологического заболевания; развитие менингококковой инфекции; прием пациентом запрещенных к применению в исследовании препаратов (иммунодепрессанты, кроме экулизумаба, глюкокортикостероиды, андрогены, препараты эритропоэтина, варфарин в нестабильной дозе, отказ от участия или несоблюдение пациентом процедур исследования; наличие значительных отклонений от протокола.

Исследование носило несравнительный характер и проводилось в одной группе ранее не леченных пациентов с ПНГ. Каждый из участников исследования получал исследуемый препарат Элизария в дозе 600 мг (2 флакона по 30 мл, 10 мг/мл) внутривенно капельно длительностью 30 мин один раз в неделю в течение 4 нед. Исследование состояло из периода скрининга длительностью до 16 дней и периода индукции терапии длительностью 22 дня. Пациенты, завершившие исследование по протоколу, для дальнейшего лечения экулизумабом переводились в продолженное исследование ECU-PNH-III-X «Исследование безопасности и иммуногенности долгосрочной терапии препаратом Элизария пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией, ранее принимавших участие в клинических исследованиях данного препарата» (extension study). Все визиты и про-

Контактная информация:

Птушкин Вадим Вадимович – д.м.н., проф., зам. глав. врача по гематологии ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина». Тел.: +7(495)945-94-78; e-mail: vadimvadim@inbox.ru; ORCID: 0000-0002-9368-6050

цедуры выполнили 10 пациентов – популяция PP, один пациент досрочно выбыл из исследования по причине развития нежелательного явления (НЯ) в виде аллергической реакции.

Отбор образцов крови для изучения фармакокинетики и фармакодинамики проводился у всех пациентов на визите 2 – за 15 мин до введения препарата, непосредственно после введения, через $1 \text{ ч} \pm 5 \text{ мин}$, $3 \text{ ч} \pm 5 \text{ мин}$, $6 \text{ ч} \pm 5 \text{ мин}$, $12 \text{ ч} \pm 5 \text{ мин}$, $24 \text{ ч} \pm 30 \text{ мин}$, $48 \text{ ч} \pm 30 \text{ мин}$, $96 \text{ ч} \pm 30 \text{ мин}$, $168 \text{ ч} \pm 30 \text{ мин}$ (соответствует первому отбору крови на визите 3) после окончания инфузии. На визитах 3, 4, 5 – за 15 мин до введения препарата, непосредственно после окончания инфузии экулизумаба в исследуемой дозе.

В исследовании изучались следующие фармакокинетические параметры:

1. Основные:

- C_{min} – минимальная концентрация препарата.
- C_{max} – максимальная концентрация препарата.
- C_{trough} – минимальная концентрация препарата в конце интервала дозирования после установления стационарного распределения.
- $AUC_{t,ss}$ – площадь под кривой «концентрация–время» на протяжении интервала дозирования после установления стационарного распределения.

2. Дополнительные:

- T_{max} – время достижения максимальной концентрации.
- $T_{1/2}$ – период полувыведения.
- K_{el} – константа элиминации препарата.
- MRT – среднее время удержания.
- Cl – клиренс.
- V_{ss} – объем распределения в стационарном состоянии.

Количественное определение концентрации общего (связанного и свободного) экулизумаба проводилось в центральной лаборатории отдела аналитических методов ООО «МБЦ «Генериум» валидированным методом биослойной интерферометрии с помощью интерферометра Octet® QKe System (Pall ForteBio). Метод основан на интерферометрическом измерении кинетики взаимодействия Fab-фрагмента антиидиотипического моноклонального рекомбинантного антитела против экулизумаба, иммобилизованного на биосенсоре, с экулизумабом в исследуемом образце сыворотки крови. Перед проведением количественного определения концентрации общего экулизумаба в исследуемых образцах сыворотки крови пациентов произведена валидация аналитического метода. Все расчеты выполнялись в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения Octet® Software, v.10.0 (Pall ForteBio).

В исследовании проводилась оценка ФД-свойств препарата Элизария по динамике концентрации МАК (C5b-9) в различных временных точках. Количественное определение концентрации МАК в сыворотке крови проводилось в центральной лаборатории отдела аналитических методов ООО «МБЦ «Генериум» методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора «MicroVue Complement SC5b-9 Plus EIA MicroVue Complement SC5b-9 Plus EIA» (Quidel, USA).

Оценку иммуногенности препарата Элизария проводили на основании количества и доли пациентов с наличием антилекарственных антител (АЛА), титра АЛА и их нейтрализующей активности. Определение содержания связывающих (общих) АЛА к экулизумабу в образцах плазмы крови пациентов проводилось методом, основанным на твердофазном иммуноферментном анализе в «бридж»-формате.

Оценку безопасности препарата Элизария проводили на основании:

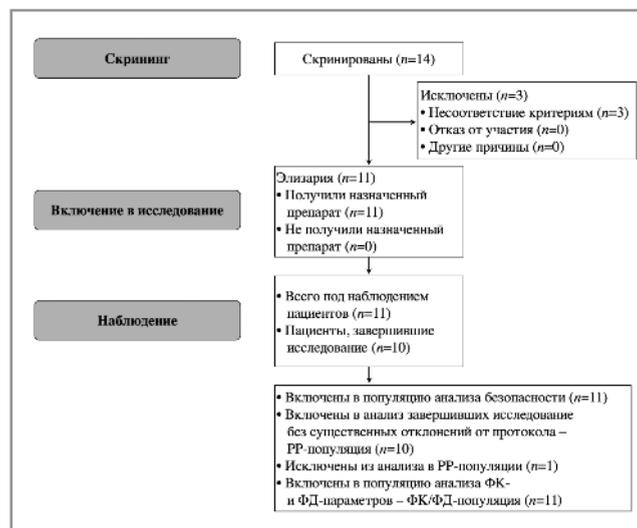


Рис. 1. Блок-схема исследования (по стандарту CONSORT).

- частоты и тяжести НЯ, серьезных нежелательных явлений (СНЯ), в том числе связанных с применением исследуемого препарата, по данным жалоб, физического осмотра, оценки показателей жизненно важных функций, лабораторных и инструментальных исследований, дневников пациентов во время проведения лечения;
- изменений показателей жизненно важных функций, результатов физического осмотра, электрокардиографии, доплер-эхокардиографии, а также лабораторных показателей на визите 5 относительно исходного значения на скрининге.

Оценку эффективности проводили по площади под кривой «концентрация ЛДГ–время» ($LDH \text{ AUC}$) в течение периода индукции терапии исследуемым препаратом Элизария (между визитами 2 и 5 включительно). Данный показатель рассчитывали индивидуально для каждого пациента с помощью метода трапеций с дальнейшим построением усредненной кривой «концентрация ЛДГ–время». Представление полученных результатов проводилось с учетом общепринятых рекомендаций [22].

Для анализа данных использовались стандартные методы, доступные в программе Stata (StataCorp LLC), версия 14 [23]. При проведении статистического анализа изучили четыре популяции пациентов. Все пациенты, включенные в исследование, – FAS-популяция, full analyses set. Эта популяция основная для оценки эффективности, также использовалась для описания исходных характеристик, включая демографические и антропометрические показатели пациентов и данные по основному и сопутствующим заболеваниям. В анализ параметров безопасности и иммуногенности включались все пациенты, получившие хотя бы одну дозу исследуемого препарата (популяция безопасности). Анализ параметров эффективности проведен у всех пациентов, завершивших исследование без значительных отклонений от протокола во вспомогательной популяции (PP-популяция, Per protocol) и для которых имелись данные, достаточные для оценки площади под кривой «концентрация ЛДГ–время» в указанном временном диапазоне. Вспомогательная PP-популяция являлась необходимой для проверки надежности основных выводов исследования в отношении альтернативных вариантов популяции пациентов, отобранной для анализа.

Анализ ФК- и ФД-показателей проводился у всех пациентов, у которых имелись данные для оценки по крайней

Таблица 1. Анализ фармакокинетических параметров

Параметр	Cmin, мкг/мл	Cmax, мкг/мл	Ctrough, мкг/мл	AUCt, ss, мкг*ч/мл	AUCinf, мкг*ч/мл	Tmax, ч	T1/2, ч	Kel, ч-1	MRT, ч	Cl, мл/ч	Vss, л
N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
M	47,09	257,78	47,09	18470,01	25322,52	1,22	77,45	0,0102	110,29	30,43	2,84
SD	33,75	44,77	33,75	6403,62	15068,90	1,23	36,45	0,0031	53,72	16,24	0,79
gMean	39,23	254,35	24,42	17380,2	22230,2	0,88	72,02	0,096	102,26	26,99	2,76
95% ДИ для gMean	(26,05; 59,09)	(226,76; 285,30)	(26,05; 59,09)	(13448,7; 22461,0)	(15645,7; 31585,9)	(0,52; 1,48)	(56,11; 92,45)	(0,0075; 0,0124)	(79,44; 131,64)	(19,00; 38,35)	(2,34; 3,25)
Min	15,3	191,9	15,3	7345,1	8357,9	0,5	45,9	0,0039	68,5	9,3	2,1
Max	134,4	327,0	134,4	30247,0	64586,2	3,7	177,1	0,0151	258,9	71,8	4,9
Me	33,9	241,4	33,9	17951,1	22814,2	0,7	65,9	0,0105	94,1	26,3	2,6
IQR	28,5	81,7	28,5	8419,4	10594,9	1,1	31,4	0,0047	49,7	13,8	1,0
CV, %	71,7	17,4	71,7	34,7	59,5	100,3	47,1	30,6	48,7	53,4	27,9

мере одного из запланированных ФК/ФД-параметров (ФК/ФД-популяция).

Для описания исходных характеристик пациентов, представляющих численные переменные (возраст, масса тела, лабораторные показатели и др.), вычислены следующие характеристики: число непропущенных значений (N); минимальное значение (Min); максимальное значение (Max); арифметическое среднее (Mean); стандартное отклонение (SD); 95% доверительный интервал (ДИ) для среднего, медиана (Me); межквартильный размах (IQR). Для качественных и категориальных переменных (пол, данные анамнеза, предшествующая терапия, сопутствующие заболевания, частота развития НЯ/СНЯ, доля пациентов с отклонениями по данным физикального осмотра и электрокардиографии) приведены абсолютное количество в формате n/N, а также доля (%). Для измерений концентрации и ФК-параметров дескриптивная статистика дополнительно включает геометрические средние значения и коэффициенты вариации.

При анализе данных проведено предварительное тестирование количественных переменных на нормальность распределения с помощью теста Шапиро–Уилка, а также теста на асимметрию и эксцесс с указанием значения *p* при тестировании нулевой гипотезы о нормальном распределении переменной. В случае нормального распределения для статистического анализа применялись параметрические тесты: *t*-тест, парный *t*-тест. При значительном отклонении от нормальности (*p*<0,05) использовали непараметрические тесты: тест Манна–Уитни, тест Уилкоксона. Для оценки динамики показателей между визитами использовали тест Фридмана.

Результаты

В исследование были включены 11 пациентов, вошедших в популяцию FAS (8 женщин и 3 мужчин), в возрасте от 26 до 75 лет (средний возраст 40,6±15,3 года) с индексом массы тела в диапазоне от 17,6 до 28,0 кг/м² (рис. 1). Все пациенты, включенные в исследование, – европеоидной расы. Десять (91%) пациентов завершили исследование без значимых отклонений от протокола и были включены в популяцию PP.

Изучение ФК- и ФД-показателей препарата проводилось у всех 11 (100%) пациентов. На визите 2 максимальная кон-

центрация экулизумаба – 255,05±46,77 мкг/мл зарегистрирована сразу после окончания инфузии, затем она планомерно снижалась до 47,09±33,75 мкг/мл к моменту следующего введения, причем наблюдался рост вариабельности, более выраженный в конце интервала дозирования. На визитах 3–5 средние значения концентрации общего экулизумаба за 5 мин до введения исследуемого препарата до и после установления стационарного состояния превышали 35 мкг/мл, минимальную концентрацию, достаточную для полного ингибирования внутрисосудистого гемолиза у больных ПНГ. Средняя концентрация препарата перед следующим введением (Ctrough) составила 47,09±33,75 мкг/мл (рис. 2, см. на цветной вклейке).

На основании зарегистрированных значений концентрации общего экулизумаба в сыворотке крови рассчитали индивидуальные ФК-параметры. Описательная статистика ФК-параметров приведена в табл. 1 с указанием геометрического среднего и коэффициента вариации.

В ходе клинического исследования выявлено стойкое снижение уровня МАК при проведении индукционной терапии препаратом Элизария в дозе 600 мг один раз в неделю. При этом на фоне постепенного повышения концентрации общего экулизумаба в крови уровень МАК сохраняется на стабильных низких значениях. В процессе исследования концентрация МАК находилась в пределах референсного интервала по завершении инфузии препарата и незначительно превосходила его к окончанию недельного периода после инфузии (к началу следующей инфузии). На визите 4 концентрация МАК находилась в пределах нормальных значений также и перед введением исследуемого препарата (рис. 2, см. на цветной вклейке).

В ходе оценки эффективности исследуемого препарата установлено, что среднее значение LDH AUC у пациентов, завершивших исследование по протоколу (PP), составило 17552,95±8347,31 Ед/л*дней и у всех пациентов, включенных в исследование (FAS), – 16658,82±8456,00 Ед/л*дней. Показано четырехкратное снижение средних значений ЛДГ к визиту 5 с 1286,4 до 280,9 Ед/л, что говорит о выраженном снижении активности и стабилизации гемолитического процесса в результате индукции терапии препаратом Элизария у ранее не леченных пациентов (рис. 3, см. на цветной вклейке). Статистически достоверного изменения динамики ПНГ-клона эритроцитов и гранулоцитов в ходе исследования не выявлено.

Таблица 2. НЯ, зарегистрированные в анализируемый период, по тяжести, категориям связи с введением исследуемого препарата, классам систем органов у пациентов группы лечения препаратом Элизария

Предпочтительный термин	Тяжесть	Связь с исследуемым препаратом	N	%
Любой	Степень 1		2/11	18,2
	Степень 2		3/11	27,3
	Степень 3		1/11	9,1
		Определенная	1/11	9,1
		Возможная	2/11	18,2
		Сомнительная	1/11	9,1
		Нет связи	2/11	18,2
Лабораторные исследования				
Проба Кумбса положительная	Степень 1	1 – возможная	2/11	18,2
		1 – сомнительная		
Непрямая проба Кумбса положительная	Степень 1	Определенная	1/11	9,1
		1 – возможная		
Всего в системе органов	Степень 1	1 – сомнительная	3/11	27,3
		1 – определенная		
<i>Нарушения в системе крови и лимфатической системе</i>				
Анемия	Степень 2	Нет связи	2/11	18,2
<i>Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта</i>				
Гипестезия слизистой полости рта	Степень 1	Возможная	1/11	9,1
<i>Нарушения со стороны иммунной системы</i>				
Аллергические реакции	Степень 4	Возможная	1/11	9,1
<i>Инфекции и инвазии</i>				
Вирус герпеса	Степень 1	Возможная	1/11	9,1
<i>Нарушения метаболизма и обмена веществ</i>				
Гипергликемия	Степень 2	Нет связи	1/11	9,1

Анализ показателей иммуногенности (число и доля пациентов с наличием АЛА, титр АЛА и их нейтрализующая активность) выявил наличие связывающих АЛА у 2 пациентов в низком титре. У пациента №0105 суммарный титр антител (IgG и IgM), выявленных на визитах 2 и 5, составил 1:50. У пациента №0106 титр антител (IgG), выявленных на визите 5, составил 1:10. Нейтрализующая активность АЛА у данных пациентов не выявлена. Нейтрализующие АЛА вступают в комплекс с экулизумабом и блокируют его взаимодействие с C5-компонентом комплемента, в то время как выявленные связывающие АЛА не препятствуют взаимодействию экулизумаба с C5-компонентом комплемента и не изменяют его эффективность.

В анализ безопасности включены все 11 пациентов, участвовавшие в клиническом исследовании, поскольку они получили по крайней мере одну дозу исследуемого препарата Элизария. В ходе исследования зарегистрировано 9 НЯ после применения данного препарата. Среди всех зарегистрированных НЯ 5 эпизодов у 3 пациентов имели как минимум возможную связь с исследуемым препаратом Элизария (табл. 2). Доля пациентов с НЯ, связанными с применением препарата, составила 27,3%. У 2 пациентов отмечалась положительная проба Кумбса, у 1 пациента наблюдалась оральная гипестезия и у 1 пациента – герпес-вирусная инфекция. Также в исследовании зарегистрировано одно СНЯ – системная аллергическая реакция, которая, по мнению исследователя, имела возможную связь с исследуемым препаратом и разрешилась без последствий. У большинства пациентов зарегистрированные НЯ –

не выше 2-й степени тяжести. Среди зарегистрированных в исследовании 9 эпизодов НЯ у пациентов группы лечения препаратом Элизария 5 (55,6%) эпизодов не разрешились, 3 (33,3%) разрешились без последствий для пациента, исход 1 (11,1%) эпизода неизвестен. Вместе с тем только для 1 (11,1%) эпизода НЯ потребовалось медикаментозное лечение.

При анализе лабораторных показателей крови отмечено статистически значимое снижение показателей аспартатаминотрансферазы, ЛДГ на визите 5 по отношению к визиту 1 ($p=0,0033$), а также статистически значимое повышение гаптоглобина на визите 5 по отношению к визиту 1 ($p=0,0049$), что объясняется положительным эффектом препарата Элизария по снижению гемолитической активности. В показателях общего анализа мочи и коагулограммы статистически значимых изменений нет. Отмечена тенденция к снижению среднего давления в легочной артерии. За все время исследования на разных визитах у 5 пациентов выявлено 21 клинически значимое отклонение по результатам физикального обследования. Данные отклонения регистрировались преимущественно при осмотре кожных покровов, слизистых оболочек и органа зрения. При этом статистически значимых изменений относительно визита скрининга не выявлено ($p>0,05$).

Обсуждение

Полученные в ходе данного клинического исследования результаты позволили установить характерный ФК-про-

филь препарата Элизария в ходе индукции терапии ПНГ. При этом отмечено, что концентрация препарата значительно увеличивается к моменту окончания инфузии и далее постепенно снижается до минимума в конце интервала дозирования. Средние значения концентрации экулизумаба за 5 мин до введения исследуемого препарата на всех визитах превышали 35 мкг/мл, минимальную концентрацию, достаточную для полного ингибирования внутрисосудистого гемолиза у больных ПНГ. Также продемонстрирована фармакодинамическая эффективность препарата Элизария, проявляющаяся снижением концентрации МАК после окончания первой инфузии препарата с поддержанием ее на стабильных уровнях до визита 5. Стойкое снижение концентрации МАК и четырехкратное снижение средних значений ЛДГ к визиту 5 с 1286,4 до 280,9 Ед/л демонстрировало выраженное снижение активности и стабилизацию гемолитического процесса в результате индукции терапии препаратом Элизария в дозе 600 мг один раз в неделю и подтверждало эффективность исследуемого препарата. Таким образом, полученные в исследовании данные по эффективности дополняют данные других клинических исследований препарата Элизария [19] и сопоставимы с опубликованными литературными данными по референтному препарату Солирис («Алексион Фарма ГмБХ», Швейцария) у пациентов с ПНГ [21, 24, 25]. НЯ, зарегистрированные в ходе проведения исследования, в наибольшей доле пациентов относились к лабораторным и инструментальным показателям и нарушениям со стороны крови и лимфатической системы. Из 9 НЯ только 5 НЯ имели связь с применением исследуемого препарата. В исследовании зарегистрировано 1 СНЯ в виде аллергической реакции, имевшее, по мнению исследователя, возможную причинно-следственную связь с

инфузией исследуемого препарата. Данное СНЯ разрешилось без последствий, но послужило причиной для исключения пациента из исследования. Все НЯ, связанные с исследуемым препаратом, являлись ожидаемыми и приведены в инструкции по применению референтного препарата [21]. У 2 больных ПНГ выявлены связывающие АЛА в низком титре во время лечения препаратом Элизария. В обоих случаях нейтрализующая активность АЛА отсутствовала, что указывает на низкую иммуногенность исследуемого препарата.

Заключение

Результаты проведенного клинического исследования свидетельствуют об эффективности препарата Элизария в дозе 600 мг один раз в неделю у ранее не леченных пациентов с ПНГ в фазе индукции терапии. Полученные в ходе исследования данные о ФК-свойствах и ФД-активности исследуемого препарата подтверждают обоснованность используемого режима дозирования для достижения эффективной индукции терапии у больных ПНГ. В исследовании продемонстрированы безопасность и низкая иммуногенность исследуемого препарата.

Финансирование: исследование проведено при финансовой поддержке АО «ГЕНЕРИУМ».

Конфликт интересов: В.В. Птушкин, А.Д. Кулагин, Е.А. Лукина, И.Л. Давыдкин, Т.С. Константинова, В.С. Шамрай, Н.В. Минаева участвуют в проведении клинических исследований, организуемых АО «ГЕНЕРИУМ», Д.А. Кудлай, Е.В. Гапченко, О.А. Маркова, А.Ю. Борозинцев являются сотрудниками АО «ГЕНЕРИУМ».

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 124(18):2804-11. doi: 10.1182/blood-2014-02-522128
2. Кулагин А.Д., Лисуков И.А., Птушкин В.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии. *Онкогематология*. 2014;2:20-8. [Kulagin AD, Lisukov IA, Ptushkin VV, et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Onkogematologiya*. 2014;2:20-8 (In Russ.)]. doi: 10.17650/1818-8346-2014-9-2-20-28
3. Лисуков И.А., Кулагин А.Д., Афанасьев Б.В. Лечение пароксизмальной ночной гемоглобинурии. *Онкогематология*. 2012;3:49-54. [Lisukov IA, Kulagin AD, Afanasyev BV. Treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Onkogematologiya*. 2012;3:49-54 (In Russ.)]. doi: 10.17650/1818-8346-2012-7-3-49-54
4. Kinoshita T. Congenital defects in the expression of the glycosylphosphatidylinositol-anchored complement regulatory proteins CD59 and decay-accelerating factor. *Seminars in Hematology*. 2018;55(3):136-40. doi: 10.1053/j.seminhematol.2018.04.004
5. Parker CJ. Update on the Diagnosis and Management of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016;1:208-16. doi: 10.1182/asheducation-2016.1.208
6. Кулагин А.Д., Климова О.У., Добронравов А.В. и др. Клиническая манифестация и ошибки диагностики классической пароксизмальной ночной гемоглобинурии: анализ 150 наблюдений. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(3):333-41 [Kulagin AD, Klimova OU, Dobronravov AV, et al. Clinical manifestation and diagnostic errors of classical paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: analysis of 150 observations. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2017;10(3):333-41 (In Russ.)]. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-333-341
7. Кулагин А.Д., Климова О.У., Добронравов А.В. и др. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия у детей и взрослых: сравнительный клинический профиль и долгосрочный прогноз. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2018;17(3):11-21 [Kulagin AD, Klimova OU, Dobronravov AV, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in children and adults: a comparative clinical profile and long-term prognosis. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2018;17(3):11-21 (In Russ.)]. doi: 10.24287/1726-1708-2018-17-3-11-21
8. Villegas A, Arrizabalaga B, Bonanad S, et al. Spanish Consensus Statement for Diagnosis and Treatment of Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria. *Med Clin (Barc)*. 2016;146(6):278.e1-7. doi: 10.1016/j.medcli.2015.12.012
9. Hillmen P, Young N, Schubert J, et al. The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 2006; 355(12):1233-43. doi: 10.1056/NEJMoa061648
10. Devos T, Meers S, Boeckx N. Diagnosis and management of PNH: Review and recommendations from a Belgian expert panel. *Eur J Haematol*. 2018;101(6):737-49. doi: 10.1111/ejh.13166
11. Кузник Б.И., Стуров В.Г., Левшин Н.Ю. и др. Геморрагические и тромботические заболевания и синдромы у детей и подростков: патогенез, клиника, диагностика, терапия и профилактика. Новосибирск: Наука, 2018 [Kuznik BI, Sturov VG, Levshin N, et al. Hemorrhagic and thrombotic diseases and syndromes in children and adolescents: pathogenesis, clinical features, diagnosis, therapy and prevention. Novosibirsk: Nauka, 2018 (In Russ.)]. doi: 10.21682/2311-1267-2019-6-3-54-58
12. Coyle D, Cheung MC, Evans GA. Opportunity Cost of Funding Drugs for Rare Diseases: The Cost-Effectiveness of Eculizumab in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Med Decis Making*. 2014;34(8):1016-29. doi: 10.1177/0272989X14539731

13. Kulagin A, Klimova O, Rudakova T, et al. Benefits and limitations of long-term eculizumab treatment for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): Real-world data from large cohort study in Russia. *Blood*. 2018;132(Suppl. 1):2589. doi: 10.1182/blood-2018-99-120139
14. Основные данные по государственной программе «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» на 2013–2020 годы. М.: Минпромторг России, 2014 [Basic data on the state program "Development of the pharmaceutical and medical industry" for 2013–2020. Moscow: Ministry of Industry and Trade of Russia, 2014 (In Russ.)]. http://minpromtorg.gov.ru/common/upload/files/docs/MinProm_02.06.14.pdf
15. Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза. Утверждены решением №89 от 03.11.2016 [Rules for conducting research on biological drugs of the Eurasian Economic Union. Approved by decision No. 89 of 03/03/2016 (in Russ.)]. <http://docs.cntd.ru/document/456026116>
16. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Annex to guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues. EMEA/CHMP/BWP/42832/2005 Rev1. *Eur Med Agen*. 2015;13. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-containing-biotechnology-derived-proteins-active_en-2.pdf
17. Иванов Р., Секарёва Г., Кравцова О. и др. Правила проведения исследований биоаналоговых лекарственных средств (биоаналогов). *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2014;1:21-36 [Ivanov R, Sekaryova G, Kravtsova O, et al. The rules for conducting research on bioanalogue medicines (bioanalogs). *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2014;1:21-36 (In Russ.)].
18. Симонов В.М., Пантюшенко М.С., Казаров А.А. и др. Разработка и валидация методики определения концентрации экулизумаба в плазме крови человека с применением технологии биослойной интерферометрии. БИОпрепараты. *Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(3):158-64 [Simonov VM, Pantyushenko MS, Kazarov AA, et al. Development and validation of a method for determining the concentration of eculizumab in human plasma using biolayer interferometry technology. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(3):158-64 (In Russ.)].
19. Kulagin A, Ptushkin V, Lukina E, et al. Phase III clinical trial of Elizaria® and Soliris® in adult patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: results of comparative analysis of efficacy, safety, and pharmacological data. *Blood*. 2019;134(Suppl. 1):3748. doi: 10.1182/blood-2019-125693
20. Sipol AA, Babenko EV, Borisov VI, et al. An inter-laboratory comparison of PNH clone detection by high-sensitivity flow cytometry in a Russian cohort. *Hematology*. 2015;20(1):31–8. doi: 10.1179/1607845414Y.0000000162
21. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Солирис®, регистрационный номер ЛП-001150, согласована с Минздравом России 07.12.2016 г. [Instructions for the use of the medicinal product for medical use, Soliris®, registration number LP-001150, agreed with the Ministry of Health of Russia on December 7, 2016 (In Russ.)]. <https://zdravmedinform.ru/grls/reg-lp-001159.html>
22. Мамаев А.Н., Кудлай Д.А. Визуализация данных в презентациях, отчетах и исследованиях. М.: Практическая медицина, 2011 [Mamaev AN, Kudlay DA. Data visualization in presentations, reports and studies. Moscow: Practical medicine, 2011 (In Russ.)].
23. Stata Statistical Software: Release 14. College Station T: SL, 2. <https://www.stata.com>
24. Hillmen P, Young N, Schubert J, et al. The Complement Inhibitor Eculizumab in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 2006;355(12):1233-43. doi: 10.1056/NEJMoa061648
25. Kelly RJ, Hill A, Arnold LM, et al. Long-term treatment with eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sustained efficacy and improved survival. *Blood*. 2011;117:6786-92. doi: 10.1182/blood-2011-02-333997

Поступила 29.06.2020

Остеодеструктивный синдром как первое проявление системного AL-амилоидоза

Л.П. Менделеева¹, И.Г. Рехтина¹, А.М. Ковригина^{1,2}, И.Э. Костина¹, В.А. Хышова¹, Н.К. Арутюнян¹, В.Е. Мамонов¹, В.Г. Савченко¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» ФМБА России, Москва, Россия

Аннотация

Представлено клиническое наблюдение, доказывающее, что AL-амилоидоз без сопутствующей множественной миеломы может быть причиной тяжелого остеодеструктивного синдрома. В 2004 г. у 30-летнего мужчины развился патологический перелом VIII грудного позвонка. На компьютерной томографии выявлены множественные крупные очаги деструкции во всех костях скелета. При исследовании костного мозга и резецированного ребра опухолевых клеток не обнаружено, диагноз не установлен. Через 15 лет от начала заболевания развился нефротический синдром. В биоптате почки подтверждено отложение AL-амилоида. Амилоид выявлен также в толстой кишке и костном мозге. На основании косвенных признаков (утолщение межжелудочковой перегородки до 16 мм и повышения предсердного натрийуретического пептида – NT-proBNP до 2200 пг/мл) диагностировано вовлечение сердца. В пунктате костного мозга (из 3 различных локализаций) обнаружено 2,8–5,6% клональных плазматических клеток с иммунофенотипом CD138+, CD38dim, CD19-, CD117+, CD81-, CD27-, CD56-. При цитогенетическом исследовании методом FISH (флуоресцентная гибридизация *in situ*) в 3% ядер выявлена полисомия 5, 9, 15. В сыворотке – повышение свободных легких цепей κ-типа 575 мг/л (κ/λ 44,9). На позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией (18F-фтордезоксиглюкоза), визуализированы множественные очаги деструкций с повышенной метаболической активностью (SUVmax 3,6). Из 2 очагов деструкций в костях таза с повышенным накоплением радиофармпрепарата выполнена биопсия методом открытого оперативного вмешательства. В биоптатах количество плазматических клеток не превышало 2,5%, отмечалось массивное отложение амилоида. Выявлены рентгенологические отличия поражения костей при AL-амилоидозе от остеодеструкций при множественной миеломе. У пациента в большинстве очагов деструкций визуализировались костные фрагменты точечного и линейного вида (button sequestration), содержимое очагов деструкций низкой плотности. Отсутствовало экстраоссальное распространение из больших зон деструкции. Отмечалось также спонтанное «рубцевание» отдельных участков деструкции при отсутствии терапии. Таким образом, диагноз «множественная миелома» исключен на основании рентгенологических признаков, длительности остеодеструктивного синдрома, отсутствия плазматической инфильтрации в костном мозге, в том числе из очагов костных деструкций методом открытой биопсии. Это наблюдение доказывает возможность поражения костей вследствие отложения AL-амилоида и обосновывает необходимость включения AL-амилоидоза в спектр дифференциальной диагностики заболеваний, протекающих с остеодеструктивным синдромом.

Ключевые слова: AL-амилоидоз, множественная миелома, поражение костей.

Для цитирования: Менделеева Л.П., Рехтина И.Г., Ковригина А.М. и др. Остеодеструктивный синдром как первое проявление системного AL-амилоидоза. *Терапевтический архив*. 2020; 92 (7): 85–89. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000775

Bone disease as the first manifestation of systemic AL-amyloidosis

L.P. Mendeleeva¹, I.G. Rekhtina¹, A.M. Kovrigina^{1,2}, I.E. Kostina¹, V.A. Khyshova¹, N.K. Arytyunyan¹, W.E. Mamonov¹, V.G. Savthenko¹

¹National Research Center for Hematology, Moscow, Russia;

²Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies, Moscow, Russia

Our case demonstrates severe bone disease in primary AL-amyloidosis without concomitant multiple myeloma. A 30-year-old man had spontaneous vertebral fracture Th8. A computed tomography scan suggested multiple foci of lesions in all the bones. In bone marrow and resected rib weren't detected any tumor cells. After 15 years from the beginning of the disease, nephrotic syndrome developed. Based on the kidney biopsy, AL-amyloidosis was confirmed. Amyloid was also detected in the bowel and bone marrow. On the indirect signs (thickening of the interventricular septum 16 mm and increased NT-proBNP – 2200 pg/ml), a cardiac involvement was confirmed. In the bone marrow (from three sites) was found 2.8–5% clonal plasma cells with immunophenotype CD138+, CD38dim, CD19-, CD117+, CD81-, CD27-, CD56-. FISH method revealed polysomy 5,9,15 in 3% of the nuclei. Serum free light chain Kappa 575 mg/l (κ/λ 44.9) was detected. Multiple foci of destruction with increased metabolic activity (SUVmax 3.6) were visualized on PET-CT, and a surgical intervention biopsy was performed from two foci. The number of plasma cells from the destruction foci was 2.5%, and massive amyloid deposition was detected. On CT scan foci of lesions differed from bone lesions at multiple myeloma. Bone fragments of point and linear type (button sequestration) were visualized in most of the destruction foci. The content of the lesion was low density. There was no extraosseal spread from large zones of destruction. There was also spontaneous "scarring" of the some lesions (without therapy). Thus, the diagnosis of multiple myeloma was excluded on the basis based on x-ray signs, of the duration of osteodestructive syndrome (15 years), the absence of plasma infiltration in the bone marrow, including from foci of bone destruction by open biopsy. This observation proves the possibility of damage to the skeleton due to amyloid deposition and justifies the need to include AL-amyloidosis in the spectrum of differential diagnosis of diseases that occur with osteodestructive syndrome.

Key words: AL-amyloidosis, multiple myeloma, bone disease.

For citation: Mendeleeva L.P., Rekhtina I.G., Kovrigina A.M., et al. Bone disease as the first manifestation of systemic AL-amyloidosis. *Therapeutic Archive*. 2020; 92 (7): 85–89. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000775

КТ – компьютерная томография
 ММ – множественная миелома
 ПЭТ-КТ – позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией

AL-A – AL-амилоидоз
 Ig – иммуноглобулин
 SUV – стандартизированный уровень захвата

Введение

Первичный AL-амилоидоз (AL-A) и множественная миелома (ММ) – различные по клиническим проявлениям, биологическим характеристикам и прогностическим факторам плазмоклеточные опухоли. В 2017 г. AL-A в классификации Всемирной организации здравоохранения опухолей лимфоидной и кроветворной ткани выделен в самостоятельную нозологическую форму [1]. Сочетание с ММ устанавливается у 8–9% пациентов с AL-A, а среди больных ММ – у 10–15% выявляют AL-A [2–4]. Диагностика ММ при AL-A основана на обнаружении клональных плазматических клеток в костном мозге или биоптате опухоли более 10% в сочетании с симптомокомплексом CRAB [гиперкальциемия (calcium), почечная недостаточность (renal failure), анемия (anemia), остеолитическое поражение костей (bone lesions)] либо биомаркерами высокого риска [5].

Остеолитические очаги в костях всегда требуют исключения ММ, так как поражение костей не характерно для AL-A. Тем не менее в литературе описаны единичные случаи остеолитического поражения скелета и переломов костей вследствие амилоидной инфильтрации без ММ [3, 6]. По некоторым данным, в 1% случаев AL-A выявляют костные остеолитические очаги. При этом ни у кого из этих пациентов не доказана ММ [3]. Приводим свое клиническое наблюдение, которое подтверждает возможность развития тяжелого поражения костей вследствие AL-A при отсутствии ММ.

Клинический случай

Пациент 45 лет. В возрасте 30 лет (в 2004 г.) появилась сильная боль в нижнегрудном отделе позвоночника. На компьютерной томографии (КТ) в 2006 г. визуализирован компрессионный перелом тела VIII грудного позвонка с формированием угловой кифотической деформации грудного отдела позвоночника до 151°, без значимой компрессии

спинномозгового канала. В обеих полудужках VIII грудного позвонка определялись крупные очаги деструкции костной ткани, ограниченные подчеркнутым корковым слоем с фрагментарным его прерыванием, очаги деструкции заполнены содержимым пониженной мягкотканой плотности (до 27–28 HU) без распространения его за пределы костей. Помимо этого в костях зоны сканирования определялись многочисленные разрозненные достаточно четко очерченные очаги деструкции костной ткани округлой и овальной формы размером от 2,5 до 15 мм, часть из них выходила на контур костей с прерыванием коркового слоя; в толще отдельных из очагов имелись костной плотности фрагменты точечного и линейного вида (**рис. 1**).

При КТ грудного отдела позвоночника через 1,5 года отмечены увеличение размеров ранее дифференцируемых очагов деструкции и появление новых очагов. В 2012 г. проведено комплексное КТ-исследование грудной и брюшной полостей, а также области малого таза, где отмечалось многократное увеличение количества очагов деструкции во всех видимых в зоне сканирования костях, с формированием больших участков деструкции (в боковых массах крестца слева), частичным слиянием и увеличением размеров ранее существовавших очагов (**рис. 2**). Структура новых очагов аналогична старым – в толще большого количества очагов имелись костные фрагменты точечного и линейного вида. Диагностирован новый компрессионный перелом I грудного позвонка со вздутием и деструкцией его правого поперечного отростка и полудужки. В паравертебральных мягких тканях, слева от компримированного VIII грудного позвонка, сформировалось образование пониженной мягкотканой плотности с вкраплениями извести в его толще размером 32×18×27 мм; аналогичное образование визуализировалось в переднем отрезке II ребра справа в диаметре около 20 мм с интракостальным распространением.

В 2018 г. выполнена КТ грудной полости по поводу воспалительного процесса в легких. Видимые в зоне сканирования кости испещрены очагами деструкции. Размеры и структура образований в переднем отрезке II ребра справа, в паравертебральных отделах слева от компримированного VIII грудного позвонка сохранялись прежними (**рис. 3**). Участок деструкции в правом поперечном отростке и полудужке I грудного позвонка склерозировался, уменьшился в размерах.

На скантинграмме в грудном отделе позвоночника, переднебоковых отрезках V, VI, VII ребер, грудине определялись очаги повышенного накопления радиофармпрепарата. С целью исключения ММ выполнена стерильная пункция, в миелограмме – 0,8% плазматических клеток. При иммунохимическом исследовании крови и мочи парапротеин отсутствовал (исследование свободных легких цепей в 2006 г. не выполнялось). В биоптате резецированного участка ребра опухолевых клеток не выявлено. Таким образом, генез распространенного остеодеструктивного синдрома оставался

Сведения об авторах:

Менделеева Лариса Павловна – д.м.н., проф., зам. ген. дир. по научной работе и инновациям ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0002-4966-8146

Рехтина Ирина Германовна – д.м.н., зав. отд-нием химиотерапии плазмоклеточных дискразий ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0001-5440-4340

Ковригина Алла Михайловна – д.б.н., зав. патологоанатомическим отд-нием ФГБУ «НМИЦ гематологии», проф. каф. клинической лабораторной диагностики и патологической анатомии Академии ПО ФГБУ ФНКЦ. ORCID: 0000-0002-1082-8659

Костина Ирина Эдуардовна – к.м.н., зав. отд-нием рентгенологии и компьютерной томографии ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0003-4683-4118

Арутюнян Нонна Кареновна – врач-гематолог, отд-ние высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0001-5952-0244

Мамонов Василий Евгеньевич – к.м.н., зав. ортопедическим отд-нием ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0001-7795-4564

Савченко Валерий Григорьевич – акад. РАН, д.м.н., проф., ген. дир. ФГБУ «НМИЦ гематологии», гл. внештат. специалист-гематолог Минздрава России. ORCID: 0000-0001-8188-5557

Контактная информация:

Хьюшова Виктория Александровна – клинический ординатор отд-ния химиотерапии плазмоклеточных дискразий ФГБУ «НМИЦ гематологии». Тел.: +7(495)612-49-66; e-mail: viktoria2102@icloud.com; ORCID: 0000-0002-1008-5007

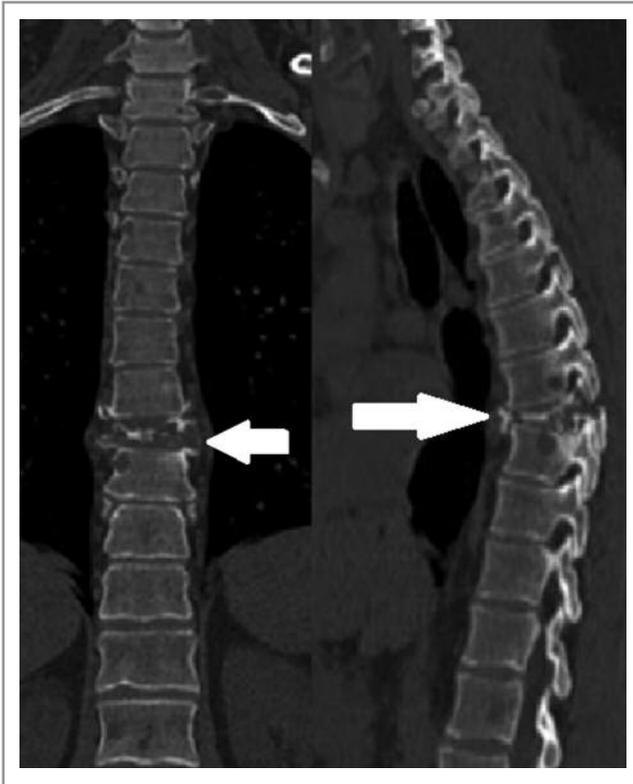


Рис. 1. Компьютерная томограмма грудного отдела позвоночника (2006 г.): компрессионный перелом тела Th8; многочисленные очаги деструкции в костях.

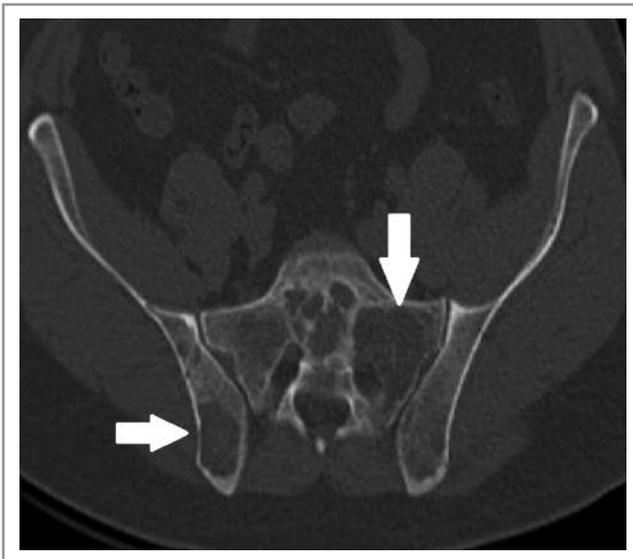


Рис. 2. Компьютерная томограмма костей таза (2012 г.): обширный очаг деструкции в левых боковых массах крестца.

неясен. Выдвинуто предположение о гистиоцитозе X, однако гистологической верификации диагноза нет. В течение последующих 15 лет повторялись эпизоды сильных болей в позвоночнике и ребрах, но за медицинской помощью пациент не обращался.

Спустя 15 лет (в 2019 г.) самочувствие ухудшилось: появились мышечная слабость, боль в суставах, значительное похудение (на 16 кг в течение года). При обследовании выявлена протеинурия (3 г/л, 3,3 г/сут), что явилось показанием



Рис. 3. Компьютерная томограмма грудной полости (2018 г.): распространенный остеодеструктивный процесс в костях.

к выполнению биопсии почки. В биоптате почки: клубочки значительно увеличены в размерах. Диффузное крупносегментарное резкое расширение мезангиального, субэндо- и субэпителиального пространств клубочков за счет массивного накопления амилоида – конго-позитивного бесклеточного гомогенного материала с двойным лучепреломлением в поляризованном свете (яблочно-зеленоватое свечение). Очаговое слабовыраженное отложение амилоида в интерстиции и вдоль тубулярных базальных мембран в глубоком мозговом слое ткани почки. Признаков атрофии канальцев и интерстициального фиброза нет. Стенки артериол и артерий мелкого и среднего калибров резко утолщены за счет массивного трансмурального отложения амилоида с выраженной обтурацией просвета сосудов. Иммунофлуоресцентное исследование выполнено на парафиновых срезах методом обработки проназой с использованием FITC-конъюгированных антител к человеческим иммуноглобулинам (Ig)A, IgG, IgM, C3, C1q, фибрину, легким цепям κ и λ. В участках отложения амилоида (стенки мелких артерий, интерстиций и тубулярные базальные мембраны) определялась выраженная экспрессия легкой цепи κ (3+), при полной рестрикции λ-цепи. Отложение амилоида выявлено также в биоптатах прямой кишки и трепанобиоптате.

Клинический анализ крови: эритроциты – $4,6 \times 10^{12}/л$, гемоглобин – 133 г/л, лейкоциты – $10,6 \times 10^9/л$, тромбоциты – $386 \times 10^9/л$.

Биохимический анализ крови: общий белок – 54 г/л, альбумин – 30 г/л, холестерин – 7 г/л, креатинин – 93 мкмоль/л, щелочная фосфатаза – 95 Е/л, паратгормон – 2,87 пмоль/л (1,6–6,9 пмоль/л), остеокальцин – 24 нг/мл (14–42 нг/мл), N-терминальный пропептид проколлагена I-го типа – 52 нг/мл

(15–80 нг/мл), ионизированный кальций – 1,19 ммоль/л (1,03–1,23 ммоль/л), фосфор неорганический – 1,42 ммоль/л (0,87–1,45 ммоль/л).

При иммунохимическом исследовании сыворотки и мочи выявлена секреция моноклональных свободных легких цепей κ-типа 575 мг/л (κ/λ 44,9).

Пункция костного мозга выполнялась из 3 разных локализаций. В костном мозге выявлено 2,8–5,6% плазматических клеток с иммунофенотипом CD138+, CD38dim, CD19-, CD117+, CD81-, CD27-, CD56-. При цитогенетическом исследовании методом FISH (флуоресцентная гибридизация *in situ*) в 3% ядер выявлена полисомия 5, 9, 15.

В трепанобиоптате (билатерально) костный мозг повышенной клеточности (относительно возрастной нормы). Гранулоцитарный росток расширен, представлен клеточными элементами на всех этапах дифференцировки с преобладанием зрелого пула, присутствуют фокусы лейкоцитарного детрита. Эритроидный росток в достаточном количестве, представлен островками эритрокариоцитов нормобластического ряда, очагово омоложен. Мегакариоциты в достаточном количестве, расположены разрозненно межтрабекулярно, обычных размеров и морфологии. Интерстициально рассеяны зрелые лимфоидные клетки. Плазматические клетки в увеличенном количестве, расположены в виде скоплений периваскулярно. Умеренно выражен гемосидероз. При гистохимическом окрашивании трепанобиоптата конго красным в стенках сосудов периоста, а также в строме костного мозга визуализируются конгофильные депозиты с эффектом двойного лучепреломления (рис. 4, см. на цветной вклейке). При иммуногистохимическом исследовании экспрессия CD56 в плазматических клетках не определялась.

При обследовании других органов диагностировано поражение сердца (гипертрофия межжелудочковой перегородки 1,6 см, предсердный натрийуретический пептид (NT-proBNP) 2201 пг/мл (N<125 пг/мл). На ЭКГ – частые групповые желудочковые экстрасистолы с пароксизмами желудочковой тахикардии.

При КТ отмечалось дальнейшее увеличение количества и размеров ранее существовавших очагов деструкции в костях. Появился новый компрессионный перелом тела I поясничного позвонка. Структура и размеры образований переднего отрезка II ребра справа и паравертебрального образования слева от VIII грудного позвонка и правого поперечного отростка и полудужки тела I грудного позвонка – без динамики.

На ПЭТ-КТ с 18F-фтордезоксиглюкозой во всех костях скелета (позвонках всех отделов, лопатках, ключице, груди, плечевых и бедренных костях, ребрах, костях таза, крестце, а также в костях свода черепа) определялись множественные разнокалиберные участки остеолитической деструкции. Некоторые из них с наличием мягкотканого компонента, местами с распространением за пределы костей размером от 0,2 до 4,1×3,4 см с повышенным накоплением радиофармпрепарата SUVmax 3,6. Часть очагов выходит за контур костей с прерыванием коркового слоя.

Длительный анамнез, а также отсутствие диагностически значимой (более 10%) плазматической инфильтрации в костном мозге по результатам многократных исследований исключали диагноз ММ. Наряду с этим столь выраженное поражение костей не укладывалось в клиническую картину системного AL-A. С диагностической целью выполнена открытая биопсия подвздошных костей из 2 мест накопления радиофармпрепарата и наличия мягкотканого компонента (по данным ПЭТ-КТ). При гистологическом исследовании

биоптатов выявлены массивные отложения амилоида. При цитологическом исследовании количество плазматических клеток в очагах деструкции составило 2–2,8%. Таким образом, доказано, что поражение костей скелета обусловлено AL-A. Изменения, которые на ПЭТ-КТ и магнитно-резонансной томографии выглядели как мягкотканый компонент, при гистологическом исследовании оказались корковым веществом кости.

Пациенту проведено 4 курса терапии (бортезомиб, циклофосфамид, дексаметазон). Во время 2-го курса развился патологический перелом I поясничного позвонка. После 1-го курса достигнута полная ремиссия, после 3 курсов – строгая полная ремиссия. Отмечался клинический ответ – улучшение функции почек и сердца (уменьшение протеинурии с 3 до 1 г/л, NT-proBNP с 2201 до 700 пг/мл). В последующем выполнена высокодозная консолидация (мелфалан 140 мг/м²) с трансплантацией аутологичных гемопоэтических периферических стволовых клеток крови. Период агранулоцитоза осложнился развитием сепсиса. Через 13 дней показатели крови восстановились, инфекционные осложнения купированы. В течение года после окончания лечения сохраняется строгая полная ремиссия, переломов костей не наблюдалось.

Обсуждение

Приведенное клиническое наблюдение доказывает возможность развития выраженного остеодеструктивного синдрома при AL-A без ММ. Необычность течения заболевания заключалась и в том, что остеодеструктивный синдром прогрессировал медленно в течение 15 лет при отсутствии других системных проявлений AL-A. В литературе описаны схожие случаи, в которых спонтанные переломы позвонков наблюдались в течение 5 лет до вовлечения других органов. Интересно, что в большинстве (73%) наблюдений, как и в нашем, диагностирован AL-A каппа [6].

По клиническому течению и рентгенологической картине поражение скелета при AL-A отличалось от ММ. В большинстве очагов деструкции видны костные фрагменты точечного и линейного вида (button sequestration). Отсутствовала динамика размеров частично обызвествленных мягкотканых образований в переднем отрезке II ребра справа и паравертебральных отделах VIII грудного позвонка, отмечалось спонтанное «рубцевание» участка деструкции в правом поперечном отростке и полудужке I грудного позвонка (в отсутствие какой-либо терапии). Следует также отметить достаточно низкую плотность содержимого очагов деструкции и отсутствие его экстраоссального распространения из больших зон деструкции. Подобные изменения нехарактерны для ММ и могут соответствовать нелангерганскоклеточному гистиоцитозу (болезни Эрджейма–Честера), однако данный диагноз исключен при многократных гистологических исследованиях биоптатов костей. Важно отметить, что амилоид накапливает радиоактивный изотоп на ПЭТ-КТ, т.е. проявляет себя как метаболически активная ткань.

Патогенез остеодеструкций при AL-A неясен. Ведущим механизмом развития остеопороза при ММ и моноклональных гаммапатиях считают повышение активности остеокластов [7–10]. В нашем случае отсутствовали биохимические признаки резорбции костей, поэтому мы не связываем столь тяжелый и длительно протекающий остеолитический синдром с нарушением функций остеокластов. Наряду с этим есть убедительные данные о связи между остеолитическим процессом в костях и экспрессией CD56 плазматиче-

ческими клетками. При ММ экспрессию CD56 плазматическими клетками обнаруживают значительно чаще при наличии остеодеструктивного синдрома, чем без поражения костей (соответственно в 91 и 38% случаев) [11]. В данном случае в трепанобиоптате костного мозга плазматические клетки малочисленны и не экспрессировали CD56. Вероятно, механизм остеодеструкций при AL-A отличается от ММ и обусловлен изменением белкового матрикса костей за счет массивного отложения амилоида. Существует также предположение, что отложение амилоида во внутрикостных сосудах приводит к трофическим нарушениям костной ткани, прогрессирующему снижению их плотности и переломам [6].

Заключение

В представленном случае диагноз ММ исключен на основании длительности остеодеструктивного синдрома, отсутствия диагностически значимой плазматической инфильтрации в костном мозге, в том числе из очагов костных деструкций методом открытой биопсии. Это наблюдение доказывает возможность поражения скелета вследствие отложения амилоида и обосновывает необходимость включения AL-A в спектр дифференциальной диагностики заболеваний, протекающих с остеодеструктивным синдромом.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Swerdlow SH, Campo E, Haeris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, 2017.
2. Kourelis TV, Kumar SK, Gertz MA, et al. J Coexistent multiple myeloma or increased bone marrow plasma cells define equally high-risk populations in patients with immunoglobulin light chain amyloidosis. *Clin Oncol.* 2013;31(34):4319-24. doi: 10.1200/JCO.2013.50.8499
3. Prokaeva T, Spencer B, Kaut M, et al. Soft Tissue, Joint, and Bone Manifestations of AL Amyloidosis. *Arthritis Rheum.* 2007;56(11):3858-68. doi: 10.1002/art.22959
4. Rajkumar SV, Gertz MA, Kyle RA. Primary systemic amyloidosis with delayed progression to multiple myeloma. *Cancer.* 1998;82:1501-5. PMID: 9554527.
5. Review International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15:e538-48. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5
6. Wu X, Feng J, Cao X, et al. Atypical immunoglobulin light chain amyloidosis: Spontaneous vertebral compression fracture, liver involvement, and bone marrow involvement report of 3 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(36):e4603. doi: 10.1097/MD.0000000000004603
7. Bataille R, Chappard D, Alexandre C, et al. Importance of quantitative histology of bone changes in monoclonal gammopathy. *Br J Cancer.* 1986;53(6):805-10. doi: 10.1038/bjc.1986.136
8. Marcelli C, Chappard D, Rossi JF, et al. Histologic evidence of an abnormal bone remodeling in B-cell malignancies other than multiple myeloma. *Cancer.* 1988;62:1163-70. doi: 10.1002/1097-0142(19880915)62:6<1163::aid-cnrcr2820620620>3.0.co;2-6
9. Rossi JF, Chappard D, Marcelli C, et al. Micro-osteoclast resorption as a characteristic feature of B-cell malignancies other than multiple myeloma. *Br J Haematol.* 1990;76:469-75. doi: 10.1111/j.1365-2141.1990.tb07902.x
10. Bataille R, Chappard D, Basle MF. Quantifiable excess of bone resorption in monoclonal gammopathy is an early symptom of malignancy: a prospective study of 87 bone biopsies. *Blood.* 1996;87:4762-9.
11. Ely SA, Knowles DM. Expression of CD56/neural cell adhesion molecule correlates with the presence of lytic bone lesions in multiple myeloma and distinguishes myeloma from monoclonal gammopathy of undetermined significance and lymphomas with plasmacytoid differentiation. *Am J Pathol.* 2002;160(4):1293-9. doi: 10.1016/S0002-9440(10)62556-4

Поступила 13.04.2020

Успешный опыт длительного наблюдения больных хроническим миелоидным лейкозом с глубоким молекулярным ответом на сниженных дозах ингибиторов тирозинкиназ II поколения: описание клинических случаев и обзор литературы

М.А. Гурьянова, Е.Ю. Чельшева, О.А. Шухов, А.Г. Туркина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

Современные подходы лечения хронического миелолейкоза (ХМЛ) ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) позволяют вывести в состояние стабильного глубокого молекулярного ответа порядка 60–70% больных. В соответствии с существующими клиническими рекомендациями больным ХМЛ проводится длительная терапия ИТК в стандартных дозах, что зачастую сопровождается проявлениями токсического дозозависимого действия препаратов. Внедрение подхода терапии, заключающегося в долгосрочном наблюдении больных на терапии редуцированными дозами ИТК, является актуальным вопросом у данной категории пациентов. Нами представлено 2 клинических случая снижения дозы ИТК II поколения с целью уменьшения проявлений лекарственной токсичности и профилактики нежелательных явлений терапии ИТК.

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз, ингибиторы тирозинкиназ, большой молекулярный ответ, глубокий молекулярный ответ, нежелательные явления, редукция доз, иматиниб, nilотиниб, дазатиниб.

Для цитирования: Гурьянова М.А., Чельшева Е.Ю., Шухов О.А., Туркина А.Г. Успешный опыт длительного наблюдения больных хроническим миелоидным лейкозом с глубоким молекулярным ответом на сниженных дозах ингибиторов тирозинкиназ II поколения: описание клинических случаев и обзор литературы. *Терапевтический архив.* 2020; 92 (7): 90–94. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000789

Successful use of long-term follow-up in patients with chronic myeloid leukemia with a deep molecular response at reduced doses of 2nd generation tyrosine kinase inhibitors: clinical cases and literature review

M.A. Gurianova, E.Yu. Chelysheva, O.A. Shukhov, A.G. Turkina

National Research Center for Hematology, Moscow, Russia

Therapy with tyrosine kinase inhibitors (TKI) allows to achieve a deep molecular response in 60–70% of patients with chronic myeloid leukemia (CML). According to the current guidelines CML patients receive a long-term treatment with TKI in standard dose. The frequently observed adverse effects (AE) of TKI therapy are mostly dose-dependent. A new treatment approach with TKI use in reduced dose is desirable for the CML patients with existing AE or with a high risk of AE occurrence. We report the two cases of successful long-term treatment of CML patients with reduced doses of second generation TKIs. The aim of the TKI dose reduction was to reduce the clinical manifestations of drug toxicities and to prevent the AE.

Keywords: chronic myeloid leukemia, tyrosine kinase inhibitors, major molecular response, deep molecular response, adverse effects, doses reduction, imatinib, nilotinib, dasatinib.

For citation: Gurianova M.A., Chelysheva E.Yu., Shukhov O.A., Turkina A.G. Successful use of long-term follow-up in patients with chronic myeloid leukemia with a deep molecular response at reduced doses of 2nd generation tyrosine kinase inhibitors: clinical cases and literature review. *Therapeutic Archive.* 2020; 92 (7): 90–94. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000789

БМО – большой молекулярный ответ (соотношение BCR-ABL/ABL $\leq 0,1\%$ и $\geq 0,01\%$)
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИТК – ингибиторы тирозинкиназ
МО – молекулярный ответ

НЯ – нежелательные явления
ПВ – плевральный выпот
РБЛ – ремиссия без лечения
ССО – сердечно-сосудистые осложнения
ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз

Введение

В настоящее время основным принципом терапии хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) является пожизненный прием ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) в стандартных дозах, что позволяет получить значительную редукцию объема опухолевого клона у большинства пациентов [1].

Установлено, что достижение большого молекулярного ответа – БМО (снижение экспрессии BCR-ABL до $\leq 0,1\%$) и глубокого МО (BCR-ABL $\leq 0,01\%$, включая неопределяемый уровень) – благоприятные прогностические факторы выжи-

ваемости без прогрессирования [2]. Так R. Nehlmann и соавт. продемонстрировано, что 12-летняя безрецидивная выживаемость пациентов, достигших БМО к году терапии, значительно выше, чем в группе больных, у кого БМО не получен [3, 4].

По мере увеличения сроков терапии ИТК число пациентов с БМО и глубоким МО увеличивается. За последние годы многими исследователями опубликованы результаты по отмене терапии ИТК у больных ХМЛ с длительным и стабильным глубоким МО. Установлено, что после отмены ИТК примерно у 1/2 пациентов в течение 12 мес развива-

ется молекулярный рецидив (повышение соотношения BCR-ABL/ABL > 0,1%), что требует возобновления терапии ИТК. Однако у 1/2 больных сохраняется молекулярная ремиссия, что позволяет им продолжать наблюдаться без лечения [5–9]. Таким образом, возможность завершения терапии и наблюдения в ремиссии без лечения (РБЛ) доступна только для части пациентов со стабильным глубоким МО.

При длительном лечении ИТК на первый план выходят вопросы предупреждения развития нежелательных явлений (НЯ) терапии и качества жизни пациентов. По мере увеличения сроков терапии пролонгируется также время «нецелевого» воздействия ИТК на другие белки-мишени в организме помимо bcr-abl-киназы, что может приводить к развитию НЯ и тем самым снижению качества жизни больных ХМЛ. Известно, что ИТК II поколения обладают более выраженной ингибирующей активностью по отношению к опухолевой тирозинкиназе bcr-abl, чем иматиниб, и имеют более широкий спектр токсичности. По литературным данным, при терапии ИТК мишенями нецелевого воздействия являются киназы c-KIT, BRAF, FMS, EGFR, PDGFR, PYK2, TIE2, VEGFR1/2/3, при чрезмерном ингибировании которых наиболее часто развиваются клинически значимые побочные эффекты [10].

Частота развития гематологической токсичности (цитопении) на фоне лечения различными ИТК II поколения примерно схожа и составляет от 14 до 28%, причем анемия развивается гораздо реже, чем тромбоцитопения и нейтропения. Профили негематологической токсичности, под которой подразумеваются лабораторные изменения и нарушения со стороны органов, сильно различаются в зависимости от применяемого ИТК. Так, специфическим видом токсичности дазатиниба являются плевральный выпот (ПВ), который развивается в среднем в 15–25% случаев, гидроперикард и легочная гипертензия [11, 12]. Н. Kantarjian и соавт. продемонстрировали, что чаще ПВ развивается при лечении дазатинибом в качестве терапии второй линии [13]. При изучении факторов, предрасполагающих к развитию ПВ у больных ХМЛ на терапии дазатинибом, выявлено, что у пациентов с артериальной гипертензией и сердечной патологией в анамнезе наиболее часто развивается данное НЯ [14, 15]. Проявления кожной токсичности встречаются как в результате терапии дазатинибом, так и нилотинибом примерно в 20 и 30% соответственно.

Наиболее часто встречающиеся побочные явления нилотиниба – повышение активности печеночных трансаминаз (55–70%) и концентрации общего билирубина (60–70%). Примерно в 22% случаев развиваются гиперхолестеринемия и дислипидемия. Наличие последней в совокупности с другими факторами риска (пожилой возраст, курение, ожирение и т.д.) значимо влияет на вероятность возникновения отдаленных сердечно-сосудистых осложнений (ССО) у больных ХМЛ: ишемической болезни сердца, окклюзионной болезни периферических артерий и нарушения мозгового

кровообращения [11, 12]. Вероятность развития того или иного неблагоприятного события со стороны сердечно-сосудистой системы определяется при помощи Фрамингемской шкалы и шкалы Score [16]. По литературным данным, в течение 5 лет частота развития сердечно-сосудистых осложнений у больных ХМЛ, находящихся на терапии нилотинибом и входящих в группу высокого риска, равна 23%, в свою очередь в когорте больных, относящихся к низкой группе риска, – всего 6%. Важно отметить, что вероятность развития ССО на терапии нилотинибом в суточной дозе 600 мг гораздо ниже, чем в дозе 800 мг/сут [17].

Проблема смертности больных ХМЛ от осложнений, возникающих вследствие длительной терапии ИТК, в том числе дазатинибом и нилотинибом, стоит очень остро. Согласно результатам 5-летнего исследования DASISION, из 23 летальных исходов, произошедших на терапии дазатинибом, всего 9 связаны с прогрессией ХМЛ, в остальных случаях причиной явились сердечно-сосудистые ($n=2$), инфекционные осложнения ($n=11$), полиорганная недостаточность ($n=1$) [18]. Наряду с этим также в 2016 г. в исследовании ENESTnd продемонстрировано, что за 5 лет наблюдения больных на терапии нилотинибом 18 из 28 смертельных исходов произошли не по причине прогрессии основного заболевания. Наиболее частые причины смерти – инфекционные осложнения ($n=4$) и развитие второго онкологического заболевания ($n=4$), летальный исход вследствие ССО зарегистрирован всего в 2 случаях [17].

С учетом того, что значительное число пациентов (до 70–80%) после 5 лет терапии ИТК достигают БМО или глубокого МО [19] и только часть из них смогут наблюдаться в РБЛ, разработка режимов безопасной редукции доз ИТК при небольшой остаточной массе опухоли у больных ХМЛ с проявлениями лекарственной токсичности или с целью профилактики НЯ – ключевой вопрос оптимизации режимов терапии на поздних сроках лечения.

Нами представлено два клинических случая, описывающих результаты длительного наблюдения больных ХМЛ на терапии сниженными дозами ИТК II поколения.

Клинический случай 1

Пациентке Д. диагноз хронического миелолейкоза в хронической фазе установлен в мае 2001 г. в возрасте 21 года. В дебюте заболевания группа риска Sokal и ELTS высокая. Обращала на себя внимание выраженная спленомегалия + 15 см ниже края реберной дуги.

В июне 2001 г. начата терапия иматинибом в дозе 400 мг/сут. Достижение глубокого МО датируется апрелем 2011 г., когда впервые выполнено молекулярно-генетическое исследование. Переносимость иматиниба неудовлетворительная: отмечались тошнота, отечность лица, увеличение массы тела, что приводило к нарушению постоянного приема иматиниба – частым и длительным перерывам в терапии. В результате этого у больной в феврале 2012 г. отмечалась потеря БМО – уровень химерного транскрипта BCR-ABL увеличился до 0,69%. Пациентке проводилась попытка последовательного увеличения суточной дозы иматиниба до 600–800 мг, однако в результате этого эффекта не получено.

Контактная информация:

Гурьянова Маргарита Анатольевна – врач-гематолог научно-консультативного отд-ния химиотерапии миелопролиферативных заболеваний. Тел.: +7(985)201-70-40; e-mail: margarita.samtcova@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-9984-389X

Сведения об авторах:

Чельшьева Екатерина Юрьевна – к.м.н., врач-гематолог, вед. науч. сотр. научно-консультативного отд-ния химиотерапии миелопролиферативных заболеваний. ORCID: 0000-0001-6423-1789

Шухов Олег Александрович – к.м.н., врач-гематолог, ст. науч. сотр. научно-консультативного отд-ния химиотерапии миелопролиферативных заболеваний. ORCID: 0000-0001-5393-0816

Туркина Анна Григорьевна – д.м.н., проф., врач-гематолог, зав. научно-консультативным отд-нием химиотерапии миелопролиферативных заболеваний. ORCID: 0000-0001-9947-2371

В апреле 2014 г. больной проведена смена терапии на ИТК II поколения нилотиниб в дозе 800 мг/сут. Сопутствующей патологии на момент смены терапии у больного не отмечено. В результате лечения через 8 мес достигнут БМО, через 1,5 года вновь получен глубокий МО.

Во время терапии нилотинибом в дозе 800 мг/сут отмечалось развитие лекарственной токсичности: гепатотоксичность 1-й степени, гиперхолестеринемия 1-й степени, кожная токсичность 2-й степени. Последняя представлена сыпью в виде папуло-пустулезных элементов на коже лица на фоне гиперпигментации и приводила к выраженному косметическому дефекту (рис. 1, см. на цветной вклейке). Начата терапия препаратами из группы статинов, гепатопротекторов, местная антибактериальная терапия кожных проявлений. Несмотря на это, побочные эффекты сохранялись, в первую очередь акнеформные высыпания и гиперпигментация кожи лица.

Учитывая наличие длительного БМО и глубокого МО, с января 2017 г. снижена доза нилотиниба до 600 мг/сут, а в сентябре 2017 г. – до 400 мг/сут. В результате снижения суточной дозы нилотиниба до 400 мг полностью регрессировала гиперхолестеринемия, нормализовалась активность печеночных трансаминаз. Однако разрешения проявлений кожной токсичности не наблюдалось, в связи с чем в октябре 2018 г. суточную дозу нилотиниба снизили до 200 мг, это в 3–4 раза ниже стандартной. Акнеформная сыпь на коже лица регрессировала лишь в результате последнего снижения дозы нилотиниба (рис. 2, см. на цветной вклейке). Важно отметить то, что в течение всего периода терапии редуцированными дозами нилотиниба проводился регулярный молекулярно-генетический мониторинг 4 раза в год; у пациентки сохранялся глубокий МО (рис. 3, см. на цветной вклейке). Длительность наблюдения на терапии нилотинибом в дозе 200 мг/сут составила 18 мес.

Клинический случай 2

Пациентке У. диагноз хронического миелолейкоза в хронической фазе установлен в декабре 2014 г. в возрасте 55 лет. Группа риска Sokal промежуточная, группа риска ELTS низкая. Сопутствующей патологии на момент диагностики ХМЛ у пациентки не отмечалось. С декабря 2014 г. начата терапия иматинибом в дозе 400 мг/сут. БМО достигнут через 6 мес терапии, глубокий МО – через 1 год лечения. Однако отмечались признаки токсичности 4-й степени в виде повышения активности печеночных трансаминаз. В результате 3-месячного перерыва в терапии в марте 2015 г. констатирован рост соотношения BCR-ABL/ABL до 24,5%. После возобновления терапии иматинибом в прежней дозе 400 мг/сут вновь повысилась активность аланинаминотрансферазы и аспаргатаминотрансферазы 2–3-й степени токсичности, в связи с чем в апреле 2016 г. пациентке проведена смена терапии на ИТК II поколения дазатиниб в дозе 100 мг/сут. Восстановление глубокого МО произошло через 6 мес лечения. Учитывая сопутствующую сердечно-сосудистую патологию – артериальная гипертензия 2-й степени, высокий риск развития ПВ, принимая во внимание наличие глубокого МО (МО4 – соотношение BCR-ABL/ABL $\leq 0,01$ и $>0,0032\%$ или неопределяемый уровень BCR-ABL при количестве ABL $\geq 1,0 \times 10^4$), с целью профилактики НЯ с января 2017 г. суточная доза дазатиниба снижена до 50 мг. За время наблюдения в течение 3 лет на терапии дазатинибом в суточной дозе 50 мг молекулярно-генетический мониторинг проводился 3–4 раза в год, по его результатам у пациентки сохраняется глубокий МО (МО5 – соотношение

BCR-ABL/ABL $\leq 0,001\%$ или неопределяемый уровень BCR-ABL при количестве ABL $\geq 1,0 \times 10^5$); рис. 4 (см. на цветной вклейке).

Обсуждение

В обоих клинических наблюдениях нами продемонстрирована возможность снижения доз ИТК ниже стандартных в течение длительного времени у больных ХМЛ с глубоким МО.

В первом случае редукция дозы препарата проведена в связи с проявлениями кожной токсичности, гиперхолестеринемией и гепатотоксичностью, не купированными сопроводительной терапией. Регресс кожной токсичности отмечен только при снижении дозы нилотиниба до минимальной – 200 мг/сут. Примечательным является не только то, что за длительное время наблюдения на редуцированных дозах ИТК не отмечено развития молекулярного рецидива, но и то, что даже на терапии нилотинибом в дозе 200 мг/сут, которая в несколько раз ниже стандартной дозы, у больной в течение 1,5 года сохраняется глубокий МО.

У второй больной дозу дазатиниба снизили в 2 раза – до 50 мг/сут с целью профилактики НЯ с учетом наличия глубокого МО и имеющейся сопутствующей патологии при удолетворительной переносимости препарата. Важно отметить, что при длительном наблюдении в течение 3 лет на редуцированной дозе дазатиниба у больной сохраняется неопределяемый уровень BCR-ABL.

Предположительно, и в том, и в другом случае сохранение глубокого МО в результате длительного наблюдения на терапии ИТК II поколения в дозах в несколько раз ниже стандартных может быть связано со снижением нецелевого воздействия ИТК на здоровую кроветворную ткань в фазе редукции доз, что способствует активации иммуноопосредованных механизмов, которые в настоящее время не изучены.

За последние несколько лет зарубежными исследователями опубликованы результаты исследований DESTINY и NULO-RED [20–22]. В рамках этих исследований у больных ХМЛ последовательно выполнялась редукция доз ИТК и в случае сохранения стабильного глубокого МО проводилась отмена терапии с последующим наблюдением в РБЛ. В исследованиях по изучению редукции доз ИТК включены около 260 больных, как с БМО, так и с глубоким МО. Целью обоих исследований – оценить выживаемость без потери БМО на терапии сниженными дозами ИТК и в фазе РБЛ.

В обоих исследованиях подтверждена безопасность редукции доз ИТК и получены схожие результаты: выживаемость без потери БМО в течение 12 мес на терапии сниженными дозами ИТК в группе пациентов с глубоким МО составила 98–100%; в группе больных с БМО – 80–81% [20, 21]. В исследовании DESTINY в фазе РБЛ в группе пациентов с изначальным глубоким МО выживаемость без потери БМО составила 72% [22]. В исследовании NULO-RED из 10 пациентов, которым отменили терапию ИТК, всего у 1 пациента за период наблюдения от 5 до 33 мес констатирован молекулярный рецидив [21]. Полученные данные превышали результаты предыдущих исследований по наблюдению в РБЛ, которые проводились без предшествующего этапа редукции доз ИТК. Ни в одном случае не наблюдалось прогрессии ХМЛ до продвинутых стадий, а также потери гематологического и цитогенетического ответов. Необходимо отметить, что у всех пациентов с молекулярным рецидивом после возобновления терапии ИТК восстановлен БМО в течение 5 мес [20–22]. Согласно результатам исследования

DESTINY, у многих больных после редукции дозы ИТК отмечалось разрешение проявлений лекарственной токсичности в той или иной степени [20].

К. Naqvi и соавт., в свою очередь, продемонстрировали результаты наблюдения 83 больных ХМЛ, которым в дебюте заболевания назначалась терапия дазатинибом в сниженной дозе 50 мг/сут [23]. Полученные данные сравнивались с результатами долгосрочного исследования DASISION [18], в котором больным проводилась терапия дазатинибом в стандартной дозе 100 мг/сут. Выявлено, что доля больных с полным цитогенетическим ответом через 12 мес терапии дазатинибом в дозе 50 мг/сут составила 94%, в исследовании DASISION – 83%. Также выявлено, что вероятность достижения БМО в течение 12 мес на терапии сниженными дозами дазатиниба почти в 2 раза выше, чем стандартными (81 и 46% соответственно).

Кроме того, ПВ на терапии дазатинибом в редуцированных дозах развивался достоверно реже, чем в стандартных дозах (6 и 28% соответственно) [18, 23].

В ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (г. Москва) с января 2020 г. ведется набор пациентов в клиническое исследование «Проспективное нерандомизированное стратифицированное исследование по редукции доз ИТК и отмене терапии у больных ХМЛ со стабильным глубоким молекулярным ответом». Планируется оценить выживаемость без молекулярного рецидива после отмены терапии с предшествующей двухэтапной фазой редукции доз ИТК. В рамках исследования всем больным предусмотрен регулярный молекулярно-генетический мониторинг, как после снижения дозы ИТК, так и после полной отмены терапии. Мы предполагаем, что изменение стратегии ведения больных ХМЛ от принятого в настоящее время стандарта пожизненной терапии до полной отмены лечения, с предше-

ствующей фазой редукции доз ИТК, даст возможность прекратить терапию у большего числа пациентов с ХМЛ с длительным и стабильным глубоким МО, а также снизить долю больных с проявлениями лекарственной токсичности ≥ 2 -й степени. Двух больных, наблюдение за которыми описано в данной статье, планируется включить в клиническое исследование.

Заключение

Внедрение подхода к терапии с подбором оптимальной дозы ИТК с максимальной эффективностью и минимальной интенсивностью для больных ХМЛ с признаками уже имеющейся лекарственной токсичности или высоким риском развития НЯ на терапии ИТК является ключевым вопросом для улучшения качества жизни пациентов. Необходимо сделать акцент на том, что осуществление данного подхода возможно только при условии тщательного наблюдения за пациентами и выполнения регулярного молекулярно-генетического мониторинга. Результаты наблюдения больных ХМЛ на терапии ИТК в редуцированных дозах необходимо оценить в проспективных исследованиях.

Конфликт интересов:

Чельшева Е.Ю.: предоставление консультаций Фьюжн Фарма, проведение лекций для Новартис.

Шухов О.А.: предоставление консультаций и проведение лекций для Новартис, Пфайзер.

Туркина А.Г.: предоставление консультаций Новартис, Пфайзер, Фьюжн Фарма.

Гурьянова М.А. заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Туркина А.Г., Новицкая Н.В., Голенков А.К. и др. Регистр больных хроническим миелолейкозом в Российской Федерации: от наблюдательного исследования к оценке эффективности терапии в клинической практике. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(3):390-401 [Turkina AG, Novickaya NV, Golenkov AK, et al. Chronic myeloid leukemia patient registry in the Russian Federation: from observational studies to the efficacy evaluation in clinical practice. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2017;10(3):390-401 (In Russ.)]. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-390-401
2. Sasaki K, Strom SS, O'Brien S, et al. Relative survival in patients with chronic-phase chronic myeloid leukaemia in the tyrosine-kinase inhibitor era: analysis of patient data from six prospective clinical trials. *Lancet Haematol*. 2015;5:e186-93. doi: 10.1016/S2352-3026(15)00048-4. PMID: 26688093.
3. Hehlmann R, Lauseker M, Saußele S, et al. Assessment of imatinib as first-line treatment of chronic myeloid leukemia: 10-year survival results of the randomized CML study IV and impact of non-CML determinants. *Leukemia*. 2017;31:2398-406. doi: 10.1038/leu.2017.253
4. Шухов О.А., Туркина А.Г., Чельшева Е.Ю. и др. Отдаленные результаты терапии ингибиторами тирозинкиназ у больных хроническим миелолейкозом в ранней и поздней хронической фазе. *Клиническая онкогематология*. 2016;9:368 [Shukhov OA, Turkina AG, Chelysheva EYu, et al. Long-term results of tyrosine kinase inhibitors treatment in chronic myeloid leukemia patients in early and late chronic phase. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2016;9:368 (In Russ.)].
5. Saussele S, Richter J, Guilhot J, et al.; EURO-SKI investigators. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. *Lancet Oncol*. 2018;19(6):747-57. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30192-X
6. Etienne G, Guilhot J, Rea D, et al. Long-term follow-up of the French Stop Imatinib (STIM1) study in patients with chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2017;35(3):298-305. doi: 10.1200/jco.2016.68.2914
7. Rea D, Nicolini FE, Tulliez M, et al. Discontinuation of dasatinib or nilotinib in chronic myeloid leukemia: interim analysis of the STOP 2G-TKI study. *Blood*. 2017;129(7):846-54. doi: 10.1182/blood-2016-09-742205
8. Chelysheva E, Petrova A, Shukhov O, et al. First interim analysis of the russian multicenter prospective study ru-ski: discontinuation of tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic myeloid leukemia and deep molecular response. 23rd Congress of European Hematology Association. *Hematologica*. 2018;2(S1):PF374.
9. Туркина А.Г., Чельшева Е.Ю., Шуваев В.А. и др. Результаты наблюдения больных хроническим миелолейкозом с глубоким молекулярным ответом без терапии ингибиторами тирозинкиназ. *Терапевтический архив*. 2017;89(12):86-96 [Turkina AG, Chelysheva EYu, Shuvaev VA, et al. Results of following up patients with chronic myeloid leukemia and a deep molecular response without tyrosine kinase inhibitor therapy. *Therapeutic Archive*. 2017;89(12):86-96 (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh2017891286-96
10. Зейфман А.А., Чельшева Е.Ю., Туркина А.Г., Чиллов Г.Г. Роль селективных ингибиторов тирозинкиназ в развитии побочных эффектов при терапии хронического миелолейкоза. *Клиническая онкогематология*. 2014;7(1):16 [Zejfman AA, Chelysheva EYu, Turkina AG, Chilov GG. Role of tyrosine-kinase inhibitor selectivity in development of adverse effects during treatment of chronic myeloid leukemia. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2014;7(1):16 (In Russ.)].
11. Ломаица Е.Г., Романова Е.Г., Сбитякова Е.И., Зарицкий А.Ю. Эффективность и безопасность ингибиторов тирозинкиназ 2-го поколения (дазатиниб, nilotinиб) в терапии хронической фазы хрони-

- ческого миелолейкоза. *Онкогематология*. 2013;2:22-33 [Lomaia EG, Romanova EG, Sbityakova EI, Zarickij AY. Efficacy and safety of tyrosine kinase inhibitors (dasatinib, nilotinib) in the treatment of chronic phase chronic myeloid leukemia. *Онкогематология*. 2013;2:22-33 (In Russ.)].
12. Лазорко Н.С., Ломаиа Е.Г., Романова Е.Г. и др. Ингибиторы тирозинкиназ второго поколения и их токсичность у больных в хронической фазе хронического миелолейкоза. *Клиническая онкогематология*. 2015;8(3):302-8 [Lazorko NS, Lomaia EG, Romanova EG, et al. Second generation tyrosine kinase inhibitors and their toxicity in treatment of patients in chronic phase of chronic myeloid leukemia. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2015;8(3):302-8 (In Russ.)].
 13. Kantarjian H, Pasquini R, Lévy V, et al. Dasatinib or high-dose imatinib for chronic-phase chronic myeloid leukemia resistant to imatinib at a dose of 400 to 600 milligrams daily: two-year follow-up of a randomized phase 2 study (START-R). *Cancer*. 2009;115:4136-47. doi: 10.1002/cncr.24504
 14. Quintá's-Cardama A, Kantarjian H, O'Brien S, et al. Pleural Effusion in Patients With Chronic Myelogenous Leukemia Treated With Dasatinib After Imatinib Failure. *J Clin Oncol*. 2007;1:25(25):3908-14. doi: 10.1200/JCO.2007.12.032
 15. De Lavallade H, Punnialingam S, Milojkovic D, et al. Pleural effusions in patients with chronic myeloid leukaemia treated with dasatinib may have an immune-mediated pathogenesis. *Br J Haematol*. 2008;141(5):745-7. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07108
 16. Троицкая Е.А., Вельмакин С.В., Кобалава Ж.Д. Концепция сосудистого возраста: новый инструмент оценки сердечно-сосудистого риска. *Артериальная гипертензия*. 2017;23(2):160-71 [Troickaya EA, Vel'makin SV, Kobalava ZhD. Concept of vascular age: new tool in cardiovascular risk assessment. *Arterial'naya gipertenziya*. 2017;23 (2):160-71 (In Russ.)]. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-2-160-171
 17. Hochhaus A, Saglio G, Hughes TP, et al. Long-term benefits and risks of frontline nilotinib vs imatinib for chronic myeloid leukemia in chronic phase: 5-year update of the randomized ENESTnd trial. *Leukemia*. 2016;30(5):1044-54. doi: 10.1038/leu.2016.5
 18. Cortes JE, Saglio G, Kantarjian H, et al. Final 5-Year Study Results of DASISION: The Dasatinib Versus Imatinib Study in Treatment-Naive Chronic Myeloid Leukemia Patients Trial. *J Clin Oncol*. 2016;10,34(20):2333-40. doi: 10.1200/jco.2015.64.8899
 19. Шухов О.А., Туркина А.Г., Чельшева Е.Ю. и др. Терапия хронического миелолейкоза согласно современным рекомендациям: результаты пилотного проспективного исследования «Ранняя индукционная терапия и мониторинг» (РИТМ). *Клиническая онкогематология*. 2019;12(2):194-201 [Shukhov OA, Turkina AG, Chelysheva EYu, et al. Treatment of chronic myeloid leukemia according to current guidelines: the results of the pilot prospective study "early induction therapy and monitoring" (РИТМ). *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2019;12(2):194-201 (In Russ.)]. doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-2-194-201
 20. Clark RE, Polydoros F, Apperley JF, et al. De-escalation of tyrosine kinase inhibitor dose in patients with chronic myeloid leukaemia with stable major molecular response (DESTINY): an interim analysis of a non-randomised, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2017;4:e310-16. doi: 10.1016/s2352-3026(17)30066-2
 21. Rea D, Cayuela J, Dulucq S, Etienne G. Molecular responses after switching from a standard-dose twice-daily nilotinib regimen to a reduced-dose once-daily schedule in patients with chronic myeloid leukemia: a real life observational study (NILO-RED). *Blood*. 2017;130(1):318. 590th ASH, Atlanta.
 22. Clark RE, Polydoros F, Apperley JF, et al. De-escalation of tyrosine kinase inhibitor therapy before complete treatment discontinuation in patients with chronic myeloid leukaemia (DESTINY): a non-randomised, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2019;6(7):e375-e383. doi: 10.1016/S2352-3026(19)30094-8
 23. Naqvi K, Jabbour E, Skinner J, et al. Long-Term Follow-Up of Lower Dose Dasatinib (50 mg Daily) as Frontline Therapy in Newly Diagnosed Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia. *Cancer*. 2020;126(1):67-75. doi: 10.1002/cncr.32504

Поступила 13.04.2020

Прогностическое значение мутации *ASXL1* при первичном миелофиброзе. Обзор литературы и описание клинического случая

А.А. Меликян, И.Н. Суборцева, Е.А. Гилязитдинова, Т.И. Колошейнова, Е.К. Егорова, Е.И. Пустовая, А.Б. Судариков, А.О. Абдуллаев, Л.А. Горгидзе, Д.И. Чеботарев

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

Первичный миелофиброз (ПМФ) представляет собой миелопролиферативное новообразование, которое возникает *de novo*, характеризуется клональной пролиферацией стволовых клеток, аномальной экспрессией цитокинов, фиброзом костного мозга, гепатоспленомегалией – как следствие экстрамедуллярного гемопоэза, симптомами опухолевой интоксикации, кахексией, лейкоэритробластозом в периферической крови, лейкомической прогрессией и невысокой выживаемостью. ПМФ является хроническим неизлечимым заболеванием. Цели терапии: предупреждение прогрессии, увеличение общей выживаемости, улучшение качества жизни. Выбор лечебной тактики ограничен. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – единственный метод, дающий шанс на излечение. В настоящее время активно изучается роль мутаций ряда генов в раннем выявлении кандидатов для алло-ТГСК. В статье представлено описание клинического случая выявления мутации гена *ASXL1* у больного префиброзным ПМФ. Диагноз установлен на основании критериев Всемирной организации здравоохранения 2016 г. При обследовании выявлена мутация *ASXL1*. Проводится терапия интерфероном альфа, в результате которой достигнута клинко-гематологическая ремиссия. Несмотря на выявленную мутацию, пациент не является кандидатом для алло-ТГСК. Учитывая неблагоприятное прогностическое значение мутации *ASXL1*, пациент подлежит активному динамическому наблюдению и агрессивной терапевтической тактике при появлении признаков прогрессирования заболевания.

Ключевые слова: первичный миелофиброз, миелопролиферативные заболевания, мутации в гене *ASXL1*, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Для цитирования: Меликян А.А., Суборцева И.Н., Гилязитдинова Е.А. и др. Прогностическое значение мутации *ASXL1* при первичном миелофиброзе. Обзор литературы и описание клинического случая. Терапевтический архив. 2020; 92 (7): 95–99. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000788

The prognostic value of *ASXL1* mutation in primary myelofibrosis. Literature review and clinical case description

A.L. Melikyan, I.N. Subortseva, E.A. Gilyazitdinova, T.I. Koloshejnova, E.K. Egorova, E.I. Pustovaya, A.B. Sudarikov, A.O. Abdullaev, L.A. Gorgidze, D.I. Chebotarev

National Research Center for Hematology, Moscow, Russia

Primary myelofibrosis is a myeloproliferative neoplasm that occurs *de novo*, characterized by clonal proliferation of stem cells, abnormal expression of cytokines, bone marrow fibrosis, hepatosplenomegaly – as a result of extramedullary hematopoiesis, symptoms of tumor intoxication, cachexemia, peripheral blood leukoerythroblastosis, leukemic progression and low survival. Primary myelofibrosis is a chronic incurable disease. The aims of therapy: preventing progression, increasing overall survival, improving quality of life. The choice of therapeutic tactics is limited. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is the only method that gives a chance for a cure. The role of mutations in a number of genes in the early identification of candidates for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is being actively studied. The article describes the clinical case of the detection of *ASXL1* gene mutations in a patient with prefibrotic primary myelofibrosis. The diagnosis was established on the basis of WHO criteria 2016. The examination revealed a mutation of *ASXL1*. Interferon alpha therapy is carried out, against the background of which clinico-hematological remission has been achieved. Despite the identified mutation, the patient is not a candidate for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Given the unfavorable prognostic value of the *ASXL1* mutation, the patient is subject to active dynamic observation and aggressive therapeutic tactics when signs of disease progression appear.

Keywords: primary myelofibrosis, myeloproliferative neoplasms, *ASXL1* mutations, allogeneic stem cell transplantation.

For citation: Melikyan A.L., Subortseva I.N., Gilyazitdinova E.A., et al. The prognostic value of *ASXL1* mutation in primary myelofibrosis. Literature review and clinical case description. Therapeutic Archive. 2020; 92 (7): 95–99. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000788

Алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

ИП – истинная полицитемия

МПН – миелопролиферативное новообразование

ПМФ – первичный миелофиброз

ЭТ – эссенциальная тромбоцитозия

DIPSS (Dynamic International Prognostic Scoring System) – Динамическая международная система прогностической оценки

GIPSS (Genetically Inspired Prognostic Scoring System) – Генетическая международная система прогностической оценки

IPSS (International Prognostic Scoring System) – Международная система прогностической оценки

MIPSS-70, MIPSS-70 plus (Mutation-Enhanced International Prognostic Score System) – Международная система прогностических оценок

NGS (next generation sequencing) – технология секвенирования нового поколения

Введение

Миелопролиферативные новообразования (МПН) представляют собой группу клональных заболеваний, возникаю-

щих на уровне гемопоэтических стволовых клеток, что приводит к активной пролиферации дифференцированных клеток миелоидного ряда. В последние годы благодаря использованию технологии секвенирования нового поколения (next

generation sequencing – NGS) осознана сложность патогенеза МПН. Интеграция молекулярной генетики в прогностические модели и алгоритмы терапии активно применяется при первичном миелофиброзе (ПМФ) [1, 2].

При МПН в 90–95% случаев определяются мутации трех генов – *JAK2*, *CALR* или *MPL*, которые являются соматическими и обуславливают определенный фенотип заболевания. Примечательно, что эти мутации являются взаимоисключающими [3]. Мутации генов *JAK2* и *MPL* являются точечными (то есть *JAK2* V617F и *MPL* W515L/K), мутации гена *CALR* представляют собой инсерции и делеции, что приводит к сдвигу рамки считывания и генерации нового С-конца [3, 4]. Мутации *JAK2*, *CALR*, *MPL* – «драйверные», инициируют развитие заболевания и являются достаточными для того, чтобы был реализован фенотип МПН [5].

В дополнение к фенотипическим «драйверным» мутациям больные МПН часто имеют мутации в других генах, а именно в генах, участвующих в эпигенетической регуляции (например, *TET2*, *ASXL1*, *DNMT1A*, *EZH2*, *IDH1/2*), сплайсинге РНК (*SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*), супрессии опухолевого роста (*p53*). С ростом использования панелей NGS в клинической практике дополнительные нефенотипические мутации приобретают все большее прогностическое значение. В частности, известно, что *ASXL1*, *EZH2*, *IDH1/2* и *SRSF2* оказывают негативное влияние на прогноз при ПМФ [6]. Выявление мутаций в любом из этих генов у больных ПМФ определяется как высокий молекулярный риск [7]. Количество мутаций также имеет прогностическое значение – в случаях диагностики множественных мутаций прогноз хуже независимо от конкретной мутации [6, 8, 9].

Мутации в гене эпигенетической регуляции *ASXL1* часто (до 35% наблюдений) встречаются при ПМФ независимо от наличия или отсутствия драйверной мутации. *ASXL1* находится на хромосоме 20q11. Ген *ASXL1* кодирует ядерный белок, регулирующий эпигенетическое метечение и транскрипцию через взаимодействие с белками PcG и различными активаторами и супрессорами транскрипции. Рутинное исследование *ASXL1* при МПН показало, что мутации в *ASXL1* приводят к потере триметилирования гистона H3 лизина 27 (H3K27), опосредованного поликомб-репрессивным комплексом 2 (H3K27), и последующей потере репрессии кластера HOXA [10]. Последние данные указывают на то, что мутации в *ASXL1* могут также приводить к ингибированию

метилирования H3K4 [11]. Высказано предположение, что мутации *ASXL1* увеличивают активность комплекса деубиквитиназы *ASXL1*-BAP, что приводит к потере гистона H2AK119. Убиквитинирование вместе с потерей триметилирования H3K27 активирует гены, участвующие в дифференцировке клеток миелоидного ряда. Недавно показано, что мутантный *ASXL1* непосредственно связывает ВЕТ-бромодомен-содержащий белок 4, вызывая фосфорилирование РНК-полимеразы II и ацетилирование H3K27 и H3K122, что приводит к усилению активности генов, участвующих в миелоидной дифференцировке [12].

Выявление мутаций *ASXL1* является неблагоприятным прогностическим фактором при ПМФ (больные пожилого возраста, высокий лейкоцитоз в дебюте заболевания) [7, 13]. Не выявлено корреляции между мутацией *ASXL1* и конкретной «драйверной» мутацией Ph-негативных МПН. Однако при *CALR*-позитивном ПМФ мутации *ASXL1* чаще определялись в случаях *CALR* типа 1, чем *CALR* типа 2 [14]. Показано, что благоприятный прогноз *CALR*-позитивного ПМФ нивелируется при наличии мутации *ASXL1* [15]. Больные ПМФ с мутацией *ASXL1* имели более короткое время до неудачи лечения руксолитинибом и невысокую общую выживаемость [16]. У больных ПМФ *ASXL1* является геном, в котором чаще всего появлялись мутации во время лечения руксолитинибом, что приводило к развитию лейкоцитоза и тромбоцитопении [17]. Открытым остается вопрос, происходит ли селекция субклонов, несущих мутацию *ASXL1*, во время лечения руксолитинибом. Наконец, детекция мутации *ASXL1* является неблагоприятным прогностическим фактором при ПМФ при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Это независимый фактор риска низкой выживаемости без прогрессирования заболевания [18].

Эксперты Всемирной организации здравоохранения в 2016 г. выделили новую диагностическую категорию, разделив пациентов с ПМФ на две отдельные группы: префиброзный ПМФ и явный ПМФ [19]. Некоторые пациенты, у которых ранее заболевание классифицировалось как эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ), согласно новым критериям, имеют префиброзный ПМФ. Продемонстрировано, что прогноз у больных префиброзным ПМФ хуже в сравнении с ЭТ [20].

За последние 10 лет разработаны различные системы оценки прогноза для ПМФ, включая Международную систему прогностической оценки (International Prognostic Scoring System – IPSS) и Динамическую международную систему прогностической оценки (Dynamic International Prognostic Scoring System – DIPSS) [21, 22]. Ряд прогностических моделей имеют интегрированные молекулярные данные. Показано, что тип «драйверной» мутации имеет прогностическое значение при ПМФ. В частности, мутация *CALR* типа 1 является хорошим прогностическим фактором [23]. Исторически считалось, что прогноз при тройном негативном ПМФ неблагоприятный. Однако это не подтверждено в недавнем исследовании [20]. Показано, что наличие дополнительных мутаций (как сам факт наличия специфических мутаций, так и количество мутаций) имеет прогностическое значение при ПМФ [6, 7]. Пациенты с ПМФ (как с префиброзной, так и с явной стадией) с мутациями, опре-

Сведения об авторах:

Суборцева Ирина Николаевна – к.м.н., с.н.с., врач-онколог отделения стандартизации методов лечения. ORCID: 0000-0001-9045-8653

Гилязитдинова Елена Александровна – врач-гематолог отделения стандартизации методов лечения. ORCID: 0000-0002-3883-185X

Колошейнова Тамара Ивановна – к.м.н., зам. зав. отд-нием стандартизации методов лечения. ORCID: 0000-0003-4580-040X

Егорова Елена Константиновна – к.м.н., врач-гематолог отделения стандартизации методов лечения. ORCID: 0000-0002-6770-1544

Пустовая Елена Игоревна – к.м.н., врач-гематолог отделения стандартизации методов лечения. ORCID: 0000-0002-1099-8092

Судариков Андрей Борисович – д.б.н., проф., рук. лаб. молекулярной гематологии. ORCID: 0000-0001-9463-9187

Абдуллаев Адхамжон Одилович – к.м.н., н.с. лаб. молекулярной гематологии. ORCID: 0000-0003-2530-808X

Горгидзе Лана Анзоровна – к.б.н., с.н.с. отд-ния реанимации и интенсивной терапии с экспресс-лабораторией. ORCID: 0000-0001-5235-2356

Чеботарев Дмитрий Ильич – врач-патологоанатом патологоанатомического отд-ния. ORCID: 0000-0003-2146-0818

Контактная информация:

Меликян Анаит Левоновна – д.м.н., зав. отд-нием стандартизации методов лечения. Тел.: +7(903)116-98-67; e-mail: anoblood@mail.ru; ORCID: 0000-0002-2119-3775

деленными как высокий молекулярный риск, имели низкую общую выживаемость, выживаемость без трансформации в острый лейкоз. Прогноз значительно хуже при выявлении множественных мутаций [20]. Для больных ПМФ разработаны прогностические шкалы, ни в одной из них нет такого критерия, как префиброзный ПМФ или явный ПМФ.

Молекулярная международная система прогностической оценки (The Mutation-Enhanced International Prognostic Score System, MIPSS-70) и MIPSS-70 plus разработаны для пациентов моложе 70 лет с учетом возможности проведения алло-ТГСК больным, отнесенным в группу высокого риска [24]. MIPSS-70 plus содержит цитогенетическую информацию, а MIPSS-70 – нет. MIPSS-70 включает параметры: 1) наличие анемии; 2) лейкоцитоз или лейкопения; 3) тромбоцитопения; 4) бласты в периферической крови; 5) конституциональные симптомы; 6) степень фиброза костного мозга; 7) IPSS/DIPSS plus категория; 8) тип «драйверной» мутации; 9) отсутствие мутации *CALR* типа 1; 10) мутации высокого молекулярного риска; 11) категория высокого молекулярного риска; 12) наличие ≥ 2 мутаций высокого молекулярного риска. Каждый критерий имеет значение 1 балл, за исключением лейкоцитоза, тромбоцитопении и наличия ≥ 2 мутаций высокого молекулярного риска, каждый из которых оценивается как 2 балла. Пациенты могут быть стратифицированы на 3 категории: низкий, средний или высокий риск. Данная прогностическая система позволяет провести всестороннюю оценку клинических, лабораторных и молекулярных данных с целью отбора пациентов – кандидатов для алло-ТГСК.

Генетическая международная система прогностической оценки (Genetically Inspired Prognostic Scoring System – GIPSS) – это прогностическая шкала, основанная только на молекулярных характеристиках ПМФ [25]. В данной шкале проводится оценка следующих критериев: 1) кариотип очень высокого риска; 2) неблагоприятный кариотип; 3) отсутствие мутаций *CALR* типа 1; 4) наличие мутации *SRSF2*, мутации *ASXL1* или мутации *U2AF1Q157*. Согласно шкале GIPSS выделено 4 категории риска: низкий, промежуточный – 1, промежуточный – 2 и высокий. Новыми аспектами являются использование только молекулярной информации, стратификация кариотипа и замена в мутациях высокого молекулярного риска *U2AF1Q157* на *IDH1/2*. Эта система оценки фокусируется на детальной молекулярной стратификации пациентов и не включает никаких клинических параметров. Более рационально определять прогноз согласно шкале GIPSS у пациентов с префиброзным ПМФ при отсутствии клинических признаков прогрессирования заболевания. Данная шкала менее применима для больных ПМФ в стадии прогрессии, у которых лечебная тактика и прогноз обычно не зависят от молекулярного статуса.

В статье представлено описание клинического случая выявления мутации гена *ASXL1* у больного префиброзным ПМФ.

Клинический случай

Пациент Л.Ю.А. 1985 года рождения длительное время страдал хроническим гайморитом. В 2015 г. планировалось оперативное лечение по поводу искривления носовой перегородки. В клиническом анализе крови впервые выявили тромбоцитоз (общий анализ крови от 25.05.2015: гемоглобин 144 г/л, эритроциты $4,97 \times 10^{12}/л$, гематокрит 41%, тромбоциты $1417 \times 10^9/л$, лейкоциты $13,47 \times 10^9/л$, палочкоядерные 5%, сегментоядерные 59%, лимфоциты 26%, моноциты 8%, эозинофилы 1%, базофилы 1%). При обследовании –

умеренная спленомегалия (селезенка 140×60 мм, площадь 80 мм²). Молекулярно-генетическое исследование позволило обнаружить мутацию в экзоне 9 гена кальретикулин (*del CALR*). Мутаций в генах *MPL*, *JAK2* не выявлено. Согласно гистологическому исследованию трепанобиоптата костного мозга от 27.05.2015 в костномозговых полостях костный мозг повышенной клеточности относительно возрастной нормы. Кровотворная ткань представлена всеми ростками миелопоэза. Гранулоцитарный росток – на всех стадиях дифференцировки, преобладает зрелый пул, много эозинофильных генераций. Эритроидный росток в достаточном количестве, представлен эритрокариоцитами нормобластического вида. Отмечается значительная пролиферация мегакариоцитов, мегакариоциты полиморфны по размеру и форме, с гипо- и гиперлобулярными ядрами, много гигантских форм с гиперлобулярными ядрами, со зрелой морфологией, признаками атипии, расположены разрозненно и в виде рыхлых и плотных кластеров по 4–5 клеток и более межтрабекулярно с тенденцией к паратрабекулярному расположению. Интерстициально разрозненно расположены мелкие лимфоидные клетки, зрелые плазмциты. Строма с признаками огрубения. При гистохимическом окрашивании по Gomori степень ретикулинового фиброза MF-0 с участками MF-1. В трепанобиоптате картина миелопролиферативного заболевания – префиброзной стадии ПМФ. При цитогенетическом исследовании пунктата костного мозга кариотип определить не удалось – нет митозов.

В связи с высоким тромбоцитозом назначена терапия гидроксикарбамидом по 1500 мг в день перорально и антиагрегантами – ацетилсалициловая кислота 75 мг в день. В результате проводимого лечения достигнута частичная гематологическая ремиссия. Общий анализ крови от 08.09.2015: гемоглобин 147 г/л, эритроциты $4,32 \times 10^{12}/л$, гематокрит 41%, тромбоциты $718 \times 10^9/л$, лейкоциты $5,72 \times 10^9/л$. Учитывая молодой возраст пациента, с октября 2015 г. получает терапию интерфероном альфа-2b. Сохраняется частичная клинико-гематологическая ремиссия. Общий анализ крови от 20.02.2017: гемоглобин 144 г/л, эритроциты $4,97 \times 10^{12}/л$, гематокрит 41,5%, тромбоциты $514 \times 10^9/л$, лейкоциты $6,56 \times 10^9/л$. Размеры селезенки сохраняются прежние (140×60 мм).

При обследовании в 2018 г. сохранялась частичная клинико-гематологическая ремиссия. Проводимую терапию переносил относительно удовлетворительно. Отмечал слабость, вялость, повышение температуры тела до субфебрильных цифр, озноб после инъекций. Общий анализ крови от 26.06.2018: гемоглобин 142 г/л, эритроциты $4,73 \times 10^{12}/л$, гематокрит 40%, тромбоциты $370 \times 10^9/л$, лейкоциты $4,91 \times 10^9/л$. Сохранялась спленомегалия (селезенка 138×58 мм).

При гистологическом исследовании трепанобиоптата гребня подвздошной кости признаков ремиссии или прогрессирования заболевания выявлено не было. Гистологическое исследование от 29.06.2018: костные балки с признаками неравномерной резорбции, фокусами остеосклероза grade 2. Костномозговые полости широкие, в них нормоклеточный костный мозг (относительно возрастной нормы), с участками повышенной клеточности. Гранулоцитарный росток в достаточном количестве, представлен клеточными элементами различной степени зрелости с преобладанием зрелых форм. Эритроидный росток в достаточном количестве, представлен скоплениями эритрокариоцитов нормобластического ряда. Элементы мегакариоцитарного ростка располагаются разрозненно и в виде отдельных рыхлых кластеров (до 4 клеток), преимущественно межтрабекулярно, разных размеров, с морфологическими признаками атипии, гипо- и

гиперлобулярными и гиперхромными ядрами. Интерстициально рассеяны мелкие лимфоидные и зрелые плазматические клетки. Строма с геморагиями, слабовыраженным гемосидерозом. Степень ретикулинового фиброза при окраске по Gomori MF-0 с фокусами MF-1 менее 50%. Морфологическая картина характеризует МПН, ПМФ, префиброзная ранняя стадия.

Обсуждение

За последние полтора десятилетия разработаны, внедрены в практику и продолжают успешно развиваться совершенно новые технологии определения последовательности нуклеиновых кислот, в основе которых лежит стремление к миниатюризации, автоматизации, увеличению объема получаемых данных, а также удешевлению процесса. Появление NGS впервые позволило значительно ускорить и удешевить определение полной последовательности миллионов геномов организмов, начиная от бактерий и заканчивая человеком.

Молекулярная генетика активно используется для стратификации риска у пациентов с МПН. Разработка прогностических моделей, объединяющих молекулярные переменные с клиническими параметрами, позволила более точно классифицировать риски пациентов с ПМФ и позволила врачам разработать основанные на фактических данных персонализированные подходы к лечению. Открытие мутации *JAK2V617F* в 2005 г. послужило толчком для создания принципиально нового класса препаратов – ингибиторов *JAK2* [26]. Пероральный ингибитор *JAK1/2* руксолитиниб зарегистрирован для лечения больных ПМФ на основе результатов клинических исследований COMFORT I и COMFORT II и для лечения пациентов с истинной полицитемией (ИП) в случае непереносимости или резистентности к гидроксикарбамиду [27–29]. Руксолитиниб обладает клинической эффективностью, но не является строго селективным в отношении клеток МПН, несущих мутации *JAK2V617F* или *CALR*, в результате не происходит существенного снижения аллельной нагрузки. Согласно 4-летним данным исследования COMFORT I, только у 12% пациентов наблюдалось снижение аллельной нагрузки *JAK2V617F* на более 50%, менее чем у 2% пациентов достигнута полная молекулярная ремиссия [30]. Ретроспективный анализ *CALR*-позитивных пациентов, получавших руксолитиниб в исследовании COMFORT II, показал отсутствие значимых изменений аллельной нагрузки *CALR* к 60-й неделе лечения руксолитинибом, несмотря на то, что данная группа пациентов демонстрирует сопоставимые клинические ответы с *JAK2*-позитивными больными [31]. В исследовании RESPONSE снижение аллельной нагрузки *JAK2V617F* в среднем составило 40% через 4 года. Эти данные указывают на то, что руксолитиниб может иметь более высокую клональную селективность при ИП по сравнению с ПМФ [32]. Показано, что наличие сопутствующих мутаций влияет на клинический ответ на руксолитиниб при ПМФ, где пациенты с ≥ 2 мутациями с меньшей вероятностью достигают сокращения размеров селезенки и имеют более короткое время до прекращения лечения. В частности, мутации *ASXL1* ассоциированы с худшим исходом у больных ПМФ, получавших руксолитиниб

[33]. Исследование COMFORT II показало, что 5-летняя общая выживаемость в группе больных, получающих терапию руксолитинибом, составила 56%, в то время как в контрольной группе (наилучшая доступная терапия) – 44% [34]. Фактически при ретроспективном анализе исследования COMFORT-II оценка вероятной выживаемости указала на преимущество в выживаемости даже в группе больных с мутациями высокого молекулярного риска, предполагая, что руксолитиниб имеет преимущества, связанные с антиклональными эффектами [35].

Интерферон имеет долгую историю в лечении МПН. Признано, что ряд пациентов с ИП и ЭТ, получавших терапию интерфероном, достигают полного молекулярного ответа [36–38]. Сообщалось о корреляции между достижением полного молекулярного ответа и достижением длительной ремиссии МПН [39]. Один из возможных механизмов, с помощью которых интерферон позволяет получить молекулярный ответ при МПН, может быть связан со способностью препарата стимулировать обычно спокойные в цикле популяции стволовых клеток. Поскольку эта цикличность более выражена в *JAK2V617F*-положительных гемопоэтических стволовых клетках, интерферон приводит к преимущественному истощению стволовых клеток с *JAK2V617F*, что показано на мышинных моделях [40]. Выявление мутаций (например, в эпигенетических регуляторах, таких как *TET2*, *DNMT3A*) связано с резистентностью к терапии интерфероном альфа у больных как ИП, ЭТ, так и ПМФ [41, 42].

Наличие хорошей прогностической мутации (например, *CALR*) с мутацией высокого молекулярного риска (например, *ASXL1*) у больных ПМФ может представлять проблему для врачей, принимающих решение о лечении.

Выбор лечебной тактики зависит от определения индивидуального прогноза [2]. В представленном случае сумма баллов по шкалам DIPSS и DIPSS plus указывает на категорию низкого риска. Ввиду тромбоцитоза и сопутствующих факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний проводилась терапия антиагрегантами (ацетилсалициловая кислота 75 мг ежедневно) и циторедуктивная терапия. Лечение гидроксикарбамидом позволило получить частичную клинико-гематологическую ремиссию, которая сохранилась при смене лечения на интерферон альфа. Поскольку пациент не имеет конституциональных симптомов и массивной спленомегалии, лечение руксолитинибом в настоящее время не рекомендуется.

Роль прогностических шкал MIPSS-70 plus и GIPSS заключается в раннем выявлении кандидатов для алло-ТГСК. Согласно шкале MIPSS-70 определена категория среднего риска с 5-летней ожидаемой общей выживаемостью 67%. Оценка MIPSS-70 plus указывает на категорию низкого риска с 5-летней общей выживаемостью 100%. Категория риска по шкале GIPSS – промежуточная – 1. Алло-ТГСК в настоящее время не рекомендуется.

Учитывая неблагоприятное прогностическое значение мутации *ASXL1*, пациент подлежит активному динамическому наблюдению и более агрессивной терапевтической тактике при появлении признаков прогрессирования.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Меликян А.Л., Туркина А.Г., Ковригина А.М. и др. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Ph-негативных миелолипролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз) (редакция 2016 г.). *Гематология и трансфузиология*. 2017;62(1):25-60

[Melikyan AL, Turkina AG, Kovrigina AM, et al. Clinical recommendations for the diagnosis and therapy of Ph-negative myeloproliferative neoplasms (polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis) (edition 2016). *Hematology and transfusiology*. 2017;62(1):25-60 (In Russ.). doi: 10.25837/HAT.2019.51.88.001

2. Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Галстян Г.М. Протокол дифференцированного посиндромного лечения больных первичным миелофиброзом. В кн.: Абрамова А.В., Абдуллаев А.О., Азимова М.Х. и др. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. В 2 т. М., 2018; с. 777-802 [Melikyan AL, Subortseva IN, Galstyan GM. Protocol of differentiated syndromic treatment of patients with primary myelofibrosis. In: Abramova AV, Abdullaev AO, Azimova MKh, et al. Diagnostic algorithms and protocols for the treatment of the blood system diseases. Moscow, 2018; p. 777-802 (In Russ.)].
3. Nangalia J, Massie C, Baxter E, et al. Somatic *CALR* mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated *JAK2*. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2391-405. doi: 10.1056/NEJMoa1312542
4. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan A, et al. Somatic mutations of *calreticulin* in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2379-90. doi: 10.1056/NEJMoa1311347
5. Lundberg P, Karow A, Nienhold R, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2014;123(14):2220-8. doi: 10.1182/blood-2013-11-537167
6. Guglielmelli P, Lasho T, Rotunno G, et al. The number of prognostically detrimental mutations and prognosis in primary myelofibrosis: an international study of 797 patients. *Leukemia*. 2014;28(9):1804-10. doi: 10.1038/leu.2014.76
7. Vannucchi A, Lasho T, Guglielmelli P, et al. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2013;27(9):1861-9. doi: 10.1038/leu.2013.119
8. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Молекулярный патогенез миелолипролиферативных заболеваний. Материалы 19-го конгресса европейской гематологической ассоциации (2014 г. Милан). *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2014;7(4):598-607 [Melikyan AL, Subortseva IN. Molecular pathogenesis of myeloproliferative diseases. Materials of the 19th congress of the European Hematology Association (2014, Milano). *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika*. 2014;7(4):598-607 (In Russ.)].
9. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Биология миелолипролиферативных новообразований. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2016;9(3):314-25 [Melikyan AL, Subortseva IN. Biology of myeloproliferative disease. *Clinical oncohematology. Basic research and clinical practice*. 2016;9(3):314-25 (In Russ.)]. doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-314-325
10. Abdel-Wahab O, Adli M, LaFave L, et al. ASXL1 mutations promote myeloid transformation through loss of PRC2-mediated gene repression. *Cancer Cell*. 2012;22(2):180-93. doi: 10.1016/j.ccr.2012.06.032
11. Inoue D, Fujino T, Sheridan P, et al. A novel ASXL1-OGT axis plays roles in H3K4 methylation and tumor suppression in myeloid malignancies. *Leukemia*. 2018;32(6):1327-37. doi: 10.1038/s41375-018-0083-3
12. Yang H, Kurtenbach S, Guo Y, et al. Gain of function of ASXL1 truncating protein in the pathogenesis of myeloid malignancies. *Blood*. 2018;131(3):328-41. doi: 10.1182/blood-2017-06-789669
13. Tefferi A, Nicolosi M, Mudireddy M, et al. Driver mutations and prognosis in primary myelofibrosis: Mayo-Careggi MPN alliance study of 1,095 patients. *Am J Hematol*. 2018;93(3):348-55. doi: 10.1002/ajh.24978
14. Tefferi A, Lasho T, Finke C, et al. Prognostic significance of ASXL1 mutation types and allele burden in myelofibrosis. *Leukemia*. 2018;32(3):837-9. doi: 10.1038/leu.2017.318
15. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, et al. *CALR* and ASXL1 mutations-based molecular prognostication in primary myelofibrosis: an international study of 570 patients. *Leukemia*. 2014;28(7):1494-500. doi: 10.1038/leu.2014.57
16. Spiegel J, McNamara C, Kennedy J, et al. Impact of genomic alterations on outcomes in myelofibrosis patients undergoing JAK1/2 inhibitor therapy. *Blood Adv*. 2017;1(20):1729-38. doi: 10.1182/bloodadvances.2017009530
17. Newberry K, Patel K, Masarova L, et al. Clonal evolution and outcomes in myelofibrosis after ruxolitinib discontinuation. *Blood*. 2017;130(9):1125-31. doi: 10.1182/blood-2017-05-783225
18. Kröger N, Panagiota V, Badbaran A, et al. Impact of molecular genetics on outcome in myelofibrosis patients after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017;23(7):1095-01. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.03.034
19. Arber D, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544
20. Guglielmelli P, Pacilli A, Rotunno G, et al; AGIMM Group. Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of prefibrotic and overt primary myelofibrosis. *Blood*. 2017;129(24):3227-36. doi: 10.1182/blood-2017-01-761999
21. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood*. 2009;113(13):2895-901. doi: 10.1182/blood-2008-07-170449
22. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWGMRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood*. 2010;115(9):1703-8. doi: 10.1182/blood-2009-09-245837
23. Passamonti F, Giorgino T, Mora B, et al. A clinical-molecular prognostic model to predict survival in patients with post polycythemia vera and post essential thrombocythemia myelofibrosis. *Leukemia*. 2017;31(12):2726-31. doi: 10.1038/leu.2017.169
24. Guglielmelli P, Lasho T, Rotunno G, et al. MIPSS70: mutation-enhanced International Prognostic Score System for transplantation patients with primary myelofibrosis. *J Clin Oncol*. 2018;36(4):310-8. doi: 10.1200/JCO.2017.76.4886
25. Tefferi A, Guglielmelli P, Nicolosi M, et al. GIPSS: genetically inspired prognostic scoring system for primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2018;32(7):1631-42. doi: 10.1038/s41375-018-0107-z
26. Hobbs GS, Rozelle S, Mullally A. The development and use of Janus Kinase 2 inhibitors for the treatment of myeloproliferative neoplasms. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2017;31(4):613-26. doi: 10.1016/j.hoc.2017.04.002
27. Verstovsek S, Mesa R, Gotlib J, et al. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2012;366(9):799-807. doi: 10.1056/NEJMoa1110557
28. Harrison C, Kiladjan J, Al-Ali HK, et al. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2012;366(9):787-98. doi: 10.1056/NEJMoa1110556
29. Vannucchi A, Kiladjan J, Griesshammer M, et al. Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera. *N Engl J Med*. 2015;372(5):426-35. doi: 10.1056/NEJMoa1409002
30. Deininger M, Radich J, Burn T, et al. The effect of long-term ruxolitinib treatment on *JAK2p.V617F* allele burden in patients with myelofibrosis. *Blood*. 2015;126(13):1551-4. doi: 10.1182/blood-2015-03-635235
31. Guglielmelli P, Rotunno G, Bogani C, et al; COMFORT-II Investigators. Ruxolitinib is an effective treatment for *CALR*-positive patients with myelofibrosis. *Br J Haematol*. 2016;173(6):938-40. doi: 10.1111/bjh.13644
32. Vannucchi A, Verstovsek S, Guglielmelli P, et al. Ruxolitinib reduces *JAK2 p.V617F* allele burden in patients with polycythemia vera enrolled in the RESPONSE study. *Ann Hematol*. 2017;96(7):1113-20. doi: 10.1007/s00277-017-2994-x
33. Patel K, Newberry K, Luthra R, et al. Correlation of mutation profile and response in patients with myelofibrosis treated with ruxolitinib. *Blood*. 2015;126(6):790-7. doi: 10.1182/blood-2015-03-633404
34. Harrison C, Vannucchi A, Kiladjan J, et al. Long-term findings from COMFORT-II, a phase 3 study of ruxolitinib vs best available therapy for myelofibrosis [published correction appears in *Leukemia*. 2017;31:775]. *Leukemia*. 2016;30(8):1701-7. doi: 10.1038/leu.2016.148
35. Guglielmelli P, Biamonte F, Rotunno G, et al; COMFORT-II Investigators; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative (AGIMM) Investigators. Impact of mutational status on outcomes in myelofibrosis patients treated with ruxolitinib in the COMFORT-IT study. *Blood*. 2014;123(14):2157-60. doi: 10.1182/blood-2013-11-536557
36. Kiladjan J, Cassinat B, Chevret S, et al. Pegylated interferon- α -2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. *Blood*. 2008;112(8):3065-72. doi: 10.1182/blood-2008-03-143537
37. Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Manshour T, et al. Pegylated interferon α -2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. *J Clin Oncol*. 2009;27(32):5418-24. doi: 10.1200/JCO.2009.23.6075
38. Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Гилязитдинова Е.А. и др. Цепэгинтерферон альфа-2 β в лечении хронических миелолипролиферативных заболеваний. *Терапевтический архив*. 2018;90(7):23-9 [Melikyan AL, Subortseva IN, Gilyazitdinova EA, et al. Cepegininterferon α -2b in the treatment of chronic myeloproliferative diseases. *Therapeutic Archive*. 2018;90(7):23-9 (In Russ.)]. doi: 10.26442/terarkh201890723-29
39. Masarova L, Patel K, Newberry K, et al. Pegylated interferon α -2a in patients with essential thrombocythemia or polycythemia vera: a posthoc, median 83 month follow-up of an open-label, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2017;4(4):165-75. doi: 10.1016/S2352-3026(17)30030-3
40. Mullally A, Bruedigam C, Poveromo L, et al. Depletion of *JAK2V617F* myeloproliferative neoplasm-propagating stem cells by interferon- α in a murine model of polycythemia vera. *Blood*. 2013;121(18):3692-702. doi: 10.1182/blood-2012-05-432989
41. Silver R, Barel A, Lascu E, et al. The effect of initial molecular profile on response to recombinant interferon- α (rIFN α) treatment in early myelofibrosis. *Cancer*. 2017;123(14):2680-7. doi: 10.1002/cncr.30679
42. Ianotto J, Chauveau A, Boyer-Perrard F, et al. Benefits and pitfalls of pegylated interferon- α 2a therapy in patients with myeloproliferative neoplasm-associated myelofibrosis: a French Intergroup of Myeloproliferative neoplasms (FIM) study. *Haematologica*. 2018;103(3):438-46. doi: 10.3324/haematol.2017.181297

Поступила 13.04.2020

Парвовирус В19 у пациентов с ВИЧ-инфекцией

А.А. Петренко¹, Г.А. Дудина¹, Н.В. Кремнева¹, А.В. Пивник^{1,2}

¹ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Аннотация

Приводятся обзор литературы и описание собственного клинического случая. Женщина 32 лет, инфицирована ВИЧ-инфекцией в течение 6 лет, без антиретровирусной терапии. CD4+ Т-лимфоциты 87 кл/мкл, вирусная нагрузка 3750 копий/мл. Вскоре развились нормохромная нормоцитарная анемия, ретикулоцитопения. В миелограмме всех эритрокариоцитов 0,5%. Вирусная нагрузка ДНК парвовируса В19 по данным полимеразной цепной реакции оказалась более 9 млн МЕ/мл. Установлен диагноз парциальной красноклеточной аплазии, ассоциированной с парвовирусом В19. Начата антиретровирусная терапия: эфавиренз, ламевудин, тенофовир. Кроме гемотрансфузий проводилось лечение внутривенным донорским иммуноглобулином с наращиванием дозы от 5000 до 20 000 мг/сут. После отмены внутривенного иммуноглобулина в течение следующих 5 мес наблюдалась стабилизация лабораторных параметров: гемоглобин более 115 г/л, ретикулоциты более 3%, в миелограмме все эритроциты 21%. Однако элиминации парвовируса В19 не достигнуто. Максимальное снижение вирусной нагрузки по парвовирусу В19 – до 720 МЕ/мл. Особенностью случая является отсутствие клинической картины парциальной красноклеточной аплазии костного мозга при сохраняющейся вирусной нагрузке парвовируса В19 после терапии внутривенными иммуноглобулинами. ВИЧ-инфекция прогрессировала: 44 кл/мкл, вирусная нагрузка не определялась. Случай закончился летально.

Ключевые слова: парвовирус В19, парциальная красноклеточная аплазия костного мозга, ВИЧ-инфекция.

Для цитирования: Петренко А.А., Дудина Г.А., Кремнева Н.В., Пивник А.В. Парвовирус В19 у пациентов с ВИЧ-инфекцией. *Терапевтический архив.* 2020; 92 (7): 100–103. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000651

Parvovirus B19 infection in HIV-infected patients

A.A. Petrenko¹, G.A. Dudina¹, N.V. Kremneva¹, A.V. Pivnik^{1,2}

¹Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia;

²People's Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Here we provide a review of the literature and a description of our own clinical case. The patient was a 32-year-old woman who had been infected with HIV for 6 years without antiretroviral therapy. The test results showed CD4 87 cells/μl, viral load 3750 copies/ml. Normochromic normocytic anemia and reticulocytopenia developed soon. In the myelogram, all erythroblasts were 0.5%. The viral load of parvovirus B19 DNA according to PCR was more than 9 million IU/ml. Pure red cell aplasia associated with parvovirus B19 was diagnosed. We started antiretroviral therapy with efavirenz, lamivudine and tenofovir. In addition to blood transfusions, we administered intravenous donor immunoglobulin with a dose increase from 5000 mg to 20 000 mg per day. After discontinuing of intravenous immunoglobulins, the laboratory test results were stable over the next 5 months: hemoglobin was more than 115 g/L, reticulocytes – more than 3%, in the myelogram all erythroblasts were 21%. However, the elimination of parvovirus B19 wasn't achieved. The maximum decrease in viral load for parvovirus B19 was down to 720 IU/ml. A typical feature of the case was the lack of pure red cell aplasia of the bone marrow with the existing viral load of parvovirus B19. HIV infection progressed: 44 cells/μl, viral load – not determined. The case ended lethally.

Keywords: parvovirus B19, pure red cell aplasia of bone marrow, HIV infection.

For citation: Petrenko A.A., Dudina G.A., Kremneva N.V., Pivnik A.V. Parvovirus B19 infection in HIV-infected patients. *Therapeutic Archive.* 2020; 92 (7): 100–103. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000651

АРТ – антиретровирусная терапия
ВВИГ – внутривенный нормальный человеческий иммуноглобулин
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ПККА – парциальная красноклеточная аплазия
ПЦР – полимеразная цепная реакция
CD4 – CD4+ Т-лимфоциты
Hb – гемоглобин
PVB19 – парвовирус В19

Введение

Парвовирус В19 (PVB19) у человека случайно обнаружен в 1974 г. австралийским вирусологом Y. Cossart и соавт., когда впервые идентифицированы частицы PVB19 с помощью электронной микроскопии при оценке тестов на гепатит В [1]. Этот ДНК-содержащий вирус, обнаруженный в лунке №19 на планшете В, стал известен как PVB19 [2]. PVB19 является пятой инфекционной болезнью у детей наряду с корью, ветряной оспой, краснухой и скарлатиной [3, 4]. Во взрослом возрасте PVB19 может приводить к развитию парциальной красноклеточной аплазии костного мозга (ПККА) [4].

Передача инфекции происходит воздушно-капельным путем, но также возможна парентерально при введении инфицированной донорской крови или ее компонентов, при трансплантации органов, а также вертикальным путем от матери к плоду [5, 6].

PVB19 обладает выраженным тропизмом к эритроидным клеткам-предшественникам, что определяется наличием на этих клетках Р-антигена (глобозид), который действует как клеточный рецептор вируса [7, 8]. Лица, у которых генетически отсутствует Р-антиген (1 на 200 тыс. человек), устойчивы к заражению PVB19 [9]. Характерным цитопатическим эффектом вируса является обнаружение в костном мозге гигантских проэритробластов с внутриядерными

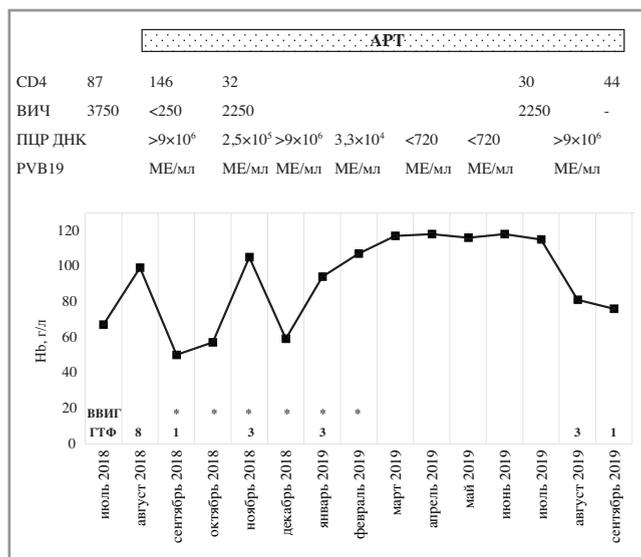


Рис. 3. Временная зависимость между АРТ, количеством РНК ВИЧ в плазме (копий/мл), количеством CD4 (клеток/мкл), содержанием Hb, вирусией PVB19 (МЕ/мл), терапией внутривенным иммуноглобулином и ГТФ эритроцитной взвеси у пациентки, получавшей сочетанную терапию по ВИЧ-инфекции и PVB19. Темная линия обозначает содержание Hb.

включениями и вакуолизацией цитоплазмы. Хроматин таких клеток светлый, гомогенный в центральной части ядра и более плотный по периферии ядерной мембраны («клетки-фонари» – lantern cell); **рис. 1, 2** (см. на цветной вклейке) [10]. Обнаружены гигантские проэритробласты при ПККА патогномично для инфекции PVB19 [11].

Из-за быстрого развития иммунного ответа (1–2 мес) у большинства людей аплазия эритроидного ростка кроветворения временная, протекает субклинически (эритема лица, артралгия и артрит, астения) без значительного снижения содержания гемоглобина (Hb) [12, 13]. В большинстве случаев отсутствуют клинически выраженные гематологические проявления, что обусловлено продолжительностью жизни эритроцитов (120 дней) и длительностью жизненного цикла PVB19 в эритрокариотах (21 день). В результате формируется стойкий иммунный ответ с образованием антител иммуноглобулина M и G, что приводит к выздоровлению [5, 12]. Тем не менее у пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), когда нарушается клеточный и гуморальный иммунитет, PVB19 может сохраняться дольше 120 дней, вызывая хроническую анемию – ПККА [14, 15]. Этот синдром описан у пациентов с различными состояниями иммунодефицита, включая ВИЧ-инфекцию [16]. ПККА протекает не так тяжело, как апластиче-

ский криз при серповидноклеточной анемии (такие пациенты погибают без заместительных гемотрансфузий – ГТФ), но может длиться месяцы или даже годы, и ее не следует путать с другими анемиями, которые могут осложнять течение ВИЧ-инфекции [17, 18]. Клиническая картина ПККА представляет собой глубокую нормохромную, нормоцитарную анемию без спленомегалии, ретикулоцитопению менее 1%, в костном мозге – все эритробласты (эритрокариоциты) менее 0,5%. Количество лейкоцитов и тромбоцитов обычно остается в норме [15].

Важным в развитии ПККА у пациентов с ВИЧ-инфекцией является количество CD4+ Т-лимфоцитов (CD4). Так по данным P. Koduri, до эры появления антиретровирусной терапии (АРТ) среднее количество CD4 у пациентов с ПККА составляло 42 кл/мкл, в то время как среднее количество CD4 у пациентов, получавших АРТ, у которых на фоне терапии развивалась ПККА, – 24 кл/мкл [11]. Эти данные позволяют судить о том, что ПККА, вызванная PVB19, может быть осложнением, связанным с прогрессирующим иммунодефицитом у ВИЧ-инфицированных пациентов [19].

Мы приводим случай ВИЧ-инфицированной пациентки с PVB19, у которой, несмотря на одновременное применение АРТ и внутривенного нормального человеческого иммуноглобулина (ВВИГ), CD4 прогрессивно уменьшались без элиминации PVB19.

Описание клинического случая

В 2012 г. у 32-летней женщины диагностирована ВИЧ-инфекция. В течение 6 лет наблюдалась инфекционистом по месту жительства без АРТ, гепатиты не обнаружены (**рис. 3**). В июле 2018 г. выявлена анемия неясной этиологии с содержанием Hb 67 г/л и отсутствием эритробластов в костном мозге. В больнице по месту жительства в июле и августе 2012 г. проводились многократные ГТФ, вводились железосодержащие препараты, витамины группы В и эритропоэтин – без клинического эффекта. С сентября 2018 г. стала получать АРТ (эфавирен + ламивудин + тенофовир) с последующей госпитализацией в гематологическое отделение ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова» ДЗМ с диагнозом анемии неясной этиологии. При поступлении: нормохромная нормоцитарная анемия, ретикулоциты менее 1%. Количество CD4 составляло 146 кл/мкл, уровень РНК ВИЧ в плазме крови менее 250 копий/мл. Концентрация сывороточного железа, фолиевой кислоты и витамина В₁₂ находилась в пределах нормальных значений, ферритин повышен – 744 мкг/л. Прямая проба Кумбса отрицательная. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) для количественного определения в крови уровня ДНК PVB19 оказалась положительной – более 9 млн МЕ/мл. В повторной миелограмме эритробласты 0,3% с обнаружением патогномичных для PVB19 гигантских проэритробластов с внутриядерными вирусными включениями – «клетки-фонари» (см. **рис. 2** на цветной вклейке).

В сентябре 2018 г. пациентка впервые получила терапию препаратом ВВИГ (5000 мг в течение 7 дней) и ГТФ. Отмечался положительный эффект в виде кратковременного увеличения содержания Hb, однако без уменьшения вирусной

Сведения об авторах:

Дудина Галина Анатольевна – д.м.н., зав. гематологическим отделением ГБУЗ «МКНЦ им. А.С. Логинова». ORCID: 0000-0001-9673-1067

Кремнева Наталья Валерьевна – врач-гематолог гематологического отделения ГБУЗ «МКНЦ им. А.С. Логинова»

Пивник Александр Васильевич – д.м.н., проф. каф. госпитальной терапии с курсами эндокринологии, гематологии и клинической лабораторной диагностики ФГАОУ ВО РУДН, рук. отд. онкогематологии и вторичных иммунодефицитных заболеваний ГБУЗ «МКНЦ им. А.С. Логинова»

Контактная информация:

Петренко Андрей Анатольевич – клин. ординатор 2-го курса по специальности «Гематология» ГБУЗ «МКНЦ им. А.С. Логинова». Тел.: +7(968)693-59-33; e-mail: petrenkoandrei13@gmail.com; ORCID: 0000-0001-8461-5421

нагрузки ДНК РVВ19. Последующая непрерывная терапия ВВИГ в течение 6 мес с повышением дозы до 20 000 мг в день курсами по 14 дней позволила стабилизировать содержание Нб, привела к ретикулоцитозу (более 3%), а также к снижению количества копий ДНК РVВ19 в крови (см. рис. 3). Увеличение дозы ВВИГ дало возможность прекратить ГТФ.

В марте 2019 г. терапия ВВИГ отменена и не возобновлялась в течение следующих 5 мес (с марта по июль 2019 г.). Данный период характеризовался сохранением содержания Нб более 115 г/л и прогрессирующим снижением вирусной нагрузки ДНК РVВ19 до менее 720 МЕ/мл. В миелограмме количество всех эритробластов – 21%.

Однако наблюдалась отрицательная динамика по иммунному статусу (см. рис. 3), в связи с чем в январе 2019 г. произведено изменение схемы АРТ (назначено: фосампренавир + ритонавир + абакавира сульфат + ламивудин) по причине развития вирусологической неэффективности ранее назначенной схемы. В марте 2019 г. вновь произведено изменение схемы АРТ (назначено: абакавира сульфат + атазанавир + ламивудин), что связано с непереносимостью ритонавира (тошнота, рвота). Однако данная замена набора препаратов АРТ не привела к положительному эффекту. На фоне прогрессирующего иммунодефицита в августе 2019 г. при КТ-исследовании органов грудной клетки выявлено объемное образование средостения размером 3×5×4 см, интимно прилежащее к дуге аорты. При гистологическом исследовании торакотомического биоптата получены реактивные изменения в ткани лимфатического узла. После операции вновь определена реактивация инфекции РVВ19 с ростом титра ДНК, падением Нб и ретикулоцитопенией до 0,2% (см. рис. 3). Диагностирована интерстициальная пневмония, вызванная *Pneumocystis jirovecii*. Проводились антибактериальная терапия (цефтриаксон, ко-тримоксазол, левофлоксацин) и многократные ГТФ. Терапии ВВИГ не было. В сентябре 2019 г. в результате резистентного течения интерстициальной пневмонии, прогрессирования парвовирусной инфекции и анемического синдрома больная погибла.

Обсуждение

Анемия при ВИЧ-инфекции распространена и часто многофакторна. До 80% ВИЧ-инфицированных людей страдают анемией, и этот процент увеличивается с развитием ВИЧ-инфекции [13]. Хроническая анемия распространена среди ВИЧ-инфицированных пациентов и является признаком плохого прогноза [20]. Сама по себе ВИЧ-инфекция вызывает нормохромную нормоцитарную анемию, что может быть опосредовано цитокиновыми реакциями [15]. Зидовудин – частая причина анемии, вызывающей два различных синдрома: во-первых, макроцитарную анемию с низким содержанием эритропоэтина, которая отвечает на снижение дозы препарата и назначение эритропоэтина; во-вторых, нормоцитарную анемию, при которой содержание эритропоэтина высокое и нет ответа на снижение дозы зидовудина. К другим, более редким причинам анемий у ВИЧ-инфицированных пациентов относятся: хроническая инфекция микобактерий avium-комплекса (МАС), использование препаратов (дапсон, ко-тримоксазол, альфа-метилдопа, хлорамфеникол, дифенилгидантоин, индометацин), а также различные виды лимфом с аутоиммунной гемолитической анемией [11, 16].

ПККА, ассоциированная с парвовирусной инфекцией, встречается у ВИЧ-инфицированных больных нечасто. Так, в одном исследовании показано, что распространенность РVВ19 у ВИЧ-инфицированных пациентов с анемией соста-

вила от 0,9 до 2% [21]. В другом исследовании ПЦР-диагностику РVВ19 проводили ВИЧ-инфицированным пациентам двух групп: 69 с анемией и 37 без анемии. Активную инфекцию В19 обнаружили у 7,2% пациентов с анемией, но ни у одного пациента без анемии [22]. В другом исследовании наблюдали 127 ВИЧ-инфицированных пациентов, из них 22 с анемией. Только у 2 пациентов (по одному из каждой группы) обнаружена ДНК РVВ19. Оба имели выраженную иммуносупрессию и персистирующую парвовирусную инфекцию [23].

Результаты данных исследований свидетельствуют о том, что инфекция РVВ19 у ВИЧ-инфицированных пациентов встречается нечасто. Данное утверждение соответствует другим сообщениям об ограниченной роли РVВ19 в развитии анемии у ВИЧ-инфицированных пациентов [24].

Поскольку ПККА при РVВ19 в большинстве случаев поддается терапии ВВИГ, ПЦР на ДНК РVВ19 в сыворотке крови должна быть включена в диагностический подход к хронической анемии у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Диагностика ПККА, ассоциированной с РVВ19, у ВИЧ-инфицированного пациента основывается на следующих критериях:

- 1) типичной картине периферической крови и аплазии красного ростка кроветворения в костном мозге;
- 2) определении вирусной нагрузки в сыворотке или аспирате костного мозга к ДНК РVВ19 с помощью ПЦР-исследования.

До эры АРТ инфекция РVВ19 у ВИЧ-инфицированных пациентов с иммуносупрессией проявлялась как хроническая анемия. Лечение этой анемии проводилось многократными ГТФ [25]. Описаны случаи, когда восстановление иммунитета с помощью АРТ привело к разрешению анемии, вызванной РVВ19 [25, 26].

В настоящее время терапия высокими дозами ВВИГ считается «золотым стандартом» для терапии ПККА [14, 27]. У большинства пациентов содержание Нб достигает нормального уровня [11]. ВВИГ содержит противопарвовирусные антитела и используется в дозе 5000 мг ежедневно 7–14 дней. В литературе приводится другая схема терапии: 400 мг/кг в течение 5–10 дней [11, 17, 28] или альтернативная схема с использованием 1 г/кг в день в течение 2 дней, которая также показала свою эффективность [29]. Пациенты с количеством CD4 более 300 кл/мкл обычно излечиваются без последующих рецидивов. У пациентов с уровнем CD4 менее 100 кл/мкл может возникнуть рецидив, и они нуждаются в повторной терапии или поддерживающей терапии для предотвращения возобновления инфекции – ВВИГ 0,4 г/кг каждые 4 нед [11, 29].

В нашем случае пациентка не получала АРТ в течение 6 лет с момента установления диагноза ВИЧ-инфекции, что привело к развитию тяжелого CD4+ Т-клеточного иммунодефицита. Возникшая на этом фоне суперинфекция РVВ19 более 9 млн МЕ/мл вызвала тяжелую ПККА и оказалась рефрактерной как к лечению АРТ, так и к терапии ВВИГ (временный частичный эффект). Однако особенностью случая является тот факт, что в течение 5 мес после отмены терапии ВВИГ, несмотря на парвовирусную вирусемию, отсутствовали признаки ПККА с сохранением содержания Нб более 115 г/л и ретикулоцитозом более 3%.

Заключение

Представленный случай демонстрирует редкое осложнение ВИЧ-инфекции – ПККА, ассоциированную с РVВ19. Проводимая АРТ не привела к увеличению количества CD4.

В результате терапии парвовирусной инфекции ВВИГ в дозе от 5000 до 20 000 мг/сут отмечен временный клинический и лабораторный эффект. Особенностью случая является тот факт, что после проведенного лечения ВВИГ, несмотря на сохраняющуюся парвовирусную вирусемию, отсутствовали признаки ПККА. Подчеркиваем, что каждый случай анемии

у ВИЧ-инфицированных пациентов должен быть исследован на наличие парвовирусной инфекции методом ПЦР, с последующей терапией ВВИГ и повышением дозы в случае отсутствия эффекта или рецидива инфекции.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet*. 1975;1(7898):72-3. doi: 10.1016/s0140-6736(75)91074-0
- Landry ML. Parvovirus B19. *Microbiol Spectr*. 2016;4(3):10.1128/microbiolspec.DMIH2-0008-2015. doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0008-2015
- Lavrentyeva IN, Antipova AY. Human parvovirus B19: virus characteristics, distribution and diagnostics of parvovirus infection. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2013;3(4):311-22. doi: 10.15789/2220-7619-2013-4-311-322
- Brown KE, Young NS, Liu JM. Molecular, cellular and clinical aspects of parvovirus B19 infection. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1994;16:1-31. doi: 10.1016/1040-8428(94)90040-x
- Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(3):485-505. doi: 10.1128/cmr.15.3.485-505.2002
- Antipova AY, Nikishov ON, Khamitova IV, et al. A screening research of plasma blood donors for markers parvovirus infection. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2015;5(2):171-4. doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-171-174
- Brown KE, Anderson SM, Young NS. Erythrocyte P antigen: Cellular receptor for B19 parvovirus. *Science*. 1993;262:114-7.
- Young N. Hematologic and hematopoietic consequences of B19 parvovirus infection. *Semin Hematol*. 1988;25:159-72.
- Brown KE, Hibbs JR, Gallinella G, et al. Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen). *NEJM*. 1994;330:1192-6. doi: 10.1056/NEJM199404283301704
- Koduri PR. Novel cytomorphology of the giant proerythroblasts of parvovirus B19 infection. *Am J Hematol*. 1998;58(2):95-9. doi: 10.1002/(sici)1096-8652(199806)58:2<95::aid-ajh1>3.0.co;2-v
- Koduri PR. Parvovirus B19-related anemia in HIV-infected patients. *AIDS Patient Care STDS*. 2000;14(1):7-11. doi: 10.1089/108729100318082
- Nikishov ON, Kuzin AA, Antipova AY, Lavrent'eva IN. Parvovirus infection – contemporary issues in epidemiology and clinical medicine. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2015;14(4):29-35. doi: 10.31631/2073-3046-2015-14-4-29-35
- Van Elsacker-Neile AM, Kroon FP, van der Ende ME, et al. Prevalence of parvovirus B19 infection in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 1996;23(6):1255-60. doi: 10.1093/clinfids/23.6.1255
- Young NS, Brown KE. Mechanisms of disease parvovirus B19. *N Engl J Med*. 2004;350:586-97.
- Fuller A, Moaven L, Spelman D, et al. Parvovirus B19 in HIV infection: a treatable cause of anemia. *Pathology*. 1996;28(3):277-80. doi: 10.1080/00313029600169154
- Azevedo KM, Setúbal S, Camacho LA, et al. Seroepidemiological study of human parvovirus B19 among human immunodeficiency virus-infected patients in a medium-sized city in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(6):901-4. doi: 10.1590/s0074-02762009000600014
- Setúbal S, Jorge-Pereira MC, de Sant'Anna AL, et al. Clinical presentation of parvovirus B19 infection in HIV-infected patients with and without AIDS. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(2):299-302. doi: 10.1590/s0037-86822003000200014
- Slavov SN, Kashima S, Pinto AC, Covas DT. Human parvovirus B19: general considerations and impact on patients with sickle-cell disease and thalassemia and on blood transfusions. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2011;62(3):247-62. doi: 10.1111/j.1574-695X.2011.00819.x
- Mouthon L, Guillemin L, Tellier Z. Intravenous immunoglobulins in autoimmune-or parvovirus B19-mediated pure red-cell aplasia. *Autoimmun Rev*. 2005;4(5):264-9. doi: 10.1016/j.autrev.2004.10.004
- Ferry T, Hirschel B, Dang T, et al. Infrequent replication of parvovirus B19 and erythrovirus genotypes 2 and 3 among HIV-infected patients with chronic anemia. *Clin Infect Dis*. 2010;50(1):115-8. doi: 10.1086/649004
- Bremner JA, Cohen BJ. Parvovirus B19 as a cause of anemia in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis*. 1994;169(4):938-40. doi: 10.1093/infdis/169.4.938a
- Gyllensten K, Sönnnerborg A, Jorup-Rönström C, et al. Parvovirus B19 infection in HIV-1 infected patients with anemia. *Infection*. 1994;22(5):356-8. doi: 10.1007/bf01715548
- Chernak E, Dubin G, Henry D, et al. Infection due to parvovirus B19 in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 1995;20(1):170-3. doi: 10.1093/clinfids/20.1.170
- Vernazza PL, Pfister LA, Siegl G, Cassinotti P. High seroprevalence of parvovirus B19 among patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 1996;22(1):198-9. doi: 10.1093/clinfids/22.1.198-a
- Azevedo KM, Setúbal S, Camacho LA, et al. Parvovirus B19 seroconversion in a cohort of human immunodeficiency virus-infected patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012;107(3):356-61. doi: 10.1590/s0074-02762012000300010
- Mylonakis E, Dickinson BP, Mileno MD, et al. Persistent parvovirus B19 related anemia of seven years' duration in an HIV-infected patient: complete remission associated with highly active antiretroviral therapy. *Am J Hematol*. 1999;60(2):164-6. doi: 10.1002/(sici)1096-8652(199902)60:2<164::aid-ajh16>3.0.co;2-4
- Frickhofen N, Abkowitz JL, Safford M, et al. Persistent B19 parvovirus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1): a treatable cause of anemia in AIDS. *Ann Intern Med*. 1990;113(12):926-33. doi: 10.7326/0003-4819-113-12-926
- Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med*. 2004;350(6):586-97. doi: 10.1056/NEJMra030840
- Koduri PR, Kumapley R, Valladares J, Teter C. Chronic pure red cell aplasia caused by parvovirus B19 in AIDS: use of intravenous immunoglobulin – a report of eight patients. *Am J Hematol*. 1999;61(1):16-20. doi: 10.1002/(sici)1096-8652(199905)61:1<16::aid-ajh4>3.0.co;2-y

Поступила 27.02.2020

РОЕМС-синдром: трудности диагностики

П.А. Лебедев¹, Е.В. Паранина¹, В.А. Россиев², Е.Ю. Федорова², А.С. Николаева²

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия;

²ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. В.Д. Середавина», Самара, Россия

Аннотация

РОЕМС – это редкий паранеопластический синдром, название которого представляет собой акроним, образованный из начальных букв названий симптомов, первоначально используемых для его определения: полиневропатия, органомегалия, эндокринопатия, моноклональный белок и кожные изменения. В связи с редкостью заболевания и небольшим количеством описанных в литературе случаев его диагностика затруднена. Среднее время от появления симптомов до установления диагноза составляет 18 мес. При этом от раннего начала специфического лечения зависит прогноз заболевания. В статье описывается клинический случай РОЕМС-синдрома у 53-летнего мужчины, иллюстрирующий сложности, которые связаны со своевременным распознаванием этого необычного заболевания.

Ключевые слова: РОЕМС-синдром, полиневропатия, органомегалия, парапротеин, эндокринопатия, леналидомид.

Для цитирования: Лебедев П.А., Паранина Е.В., Россиев В.А. и др. РОЕМС-синдром: трудности диагностики. *Терапевтический архив.* 2020; 92 (7): 104–108. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000596

POEMS-syndrome: diagnostic difficulties

P.A. Lebedev¹, E.V. Paralina¹, V.A. RossiyeV², E.Y. Fedorova², A.S. Nikolaeva²

¹Samara State Medical University, Samara, Russia;

²Seredavin Samara Regional Clinical Hospital, Samara, Russia

POEMS – syndrome is a rare paraneoplastic syndrome whose name is an acronym formed from the initial letters of the names of the symptoms originally used to determine it: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal protein and skin changes. Due to the rarity of the disease and the small number of cases described in the literature, its diagnosis is difficult. The average time from onset of symptoms to diagnosis is 18 months. Moreover, the prognosis of the disease depends on the early onset of specific treatment. The article describes a clinical case of POEMS-syndrome in a 53-year-old man, which illustrates the difficulties associated with the timely recognition of this unusual disease.

Keywords: POEMS-syndrome, polyneuropathy, organomegaly, paraprotein, endocrinopathy, lenalidomide.

For citation: Lebedev P.A., Paralina E.V., RossiyeV V.A., et al. POEMS-syndrome: diagnostic difficulties. *Therapeutic Archive.* 2020; 92 (7): 104–108. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000596

ИЛ – интерлейкин

КТ – компьютерная томография

РИД – реакция иммунодиффузии

ХВДП – хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия

Ig – иммуноглобулин

POEMS (polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal proteins and skin changes) – полиневропатия, органомегалия, эндокринопатия, моноклональный белок, изменения кожи
VEGF (vascular endothelial growth factor) – фактор роста эндотелия сосудов

Синдром РОЕМС (синдром Crow–Fukase, болезнь Takatsuki, японская системная болезнь) представляет собой редкое мультисистемное паранеопластическое заболевание, связанное с плазмноклеточной дискразией. История его изучения начинается в 1938 г., когда Шейнкером [1] сделано первое описание клинического случая сочетания у 39-летнего мужчины плазмоцитомы, сенсомоторной полиневропатии и гиперпигментации кожи.

В 1956 г. R. Crow описал 2 случая плазмоцитомы, при которых наблюдались тяжелая полиневропатия, гиперпигментация кожи, симптом белых ногтей, лимфаденопатия, кахексия [2]. При этом М-градиент в крови и белок Бенс-Джонса в моче отсутствовали. В начале 1980-х годов описано 102 наблюдения комбинации схожих признаков в японской популяции [3]. В 1980 г. предложен наиболее удачный акроним РОЕМС [1], составленный из первых букв английских названий характерных признаков:

- Polyneuropathy – полиневропатия.
- Organomegaly – органомегалия.
- Endocrinopathy – эндокринопатия.

• M-protein – М-градиент.

• Skin changes – кожные изменения.

Этиологию РОЕМС-синдрома связывают с персистенцией вируса герпеса человека 8-го типа (HHV-8), относящегося к подсемейству лимфотропных μ -герпес-вирусов, продуцирующих вирусный интерлейкин (ИЛ)-6, аминокислотная последовательность которого на 1/2 аналогична человеческому ИЛ-6, и он вызывает в организме аналогичные реакции, в том числе гиперпродукцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

Патогенез заболевания объясняют повышением VEGF, ИЛ-6, фактора некроза опухоли α и ИЛ-1 β , избыточная активность которых ведет к ускоренной гибели клеток эндотелия, выбросу тромбогенных субстанций, развитием микротромбоваскулита без первичного воспаления в сосудистой стенке, мезангиолиза без отложения депозитов в субэндотелиальном слое. Этим можно объяснить мультисистемность поражений при синдроме.

Механизм периферической невропатии при синдроме РОЕМС также связан с ишемией и повреждением эндотелия

vasa nervorum с последующим разрушением миелина и аксональной дегенерацией.

Повышенная продукция ИЛ-6 влияет на диссеминацию опухолевых клеток, а также их контакт с клетками стромы и сосудами. Его избытком можно объяснить симптомы интоксикации, тромбоцитоз, увеличение продукции адренокортикотропного гормона с гиперпигментацией кожи, остеосклероз и лимфаденопатию [4, 5].

Синдром РОЕМС манифестирует в возрасте от 40 до 60 лет, несколько чаще у мужчин, и включает следующие диагностические критерии [4, 5].

Большие:

- полиневропатия;
- моноклональная плазмочитарная инфильтрация костного мозга, секреция парапротеина (чаще λ -типа);
- склеротические изменения костной ткани или болезнь Кастлемана;
- повышение уровня VEGF.

Малые:

- органомегалия (гепатоспленомегалия или лимфаденопатия);
- генерализованный отечный синдром (отеки, плевральный выпот или асцит);
- эндокринопатия;
- кожные изменения (гипертрихоз, гиперпигментация, пеллора, акроцианоз, гиперемия кожи, гломерулярная гемангиома кожи, лейконихия);
- отек диска зрительного нерва;
- тромбоцитоз/полицитемия.

Другие симптомы: утолщение дистальных фаланг пальцев рук, снижение массы тела, легочная гипертензия/рестриктивные заболевания легких, тромботические нарушения, диарея, снижение концентрации витамина В₁₂.

Возможны сочетания любых критериев с кардиомиопатией и систолической дисфункцией левого желудочка. При этом необходимыми обязательными критериями РОЕМС-синдрома следует считать только полиневропатию и моноклональные плазмоклеточные нарушения.

Естественное течение РОЕМС-синдрома хроническое, прогрессирующее с вовлечением в процесс новых систем органов. Медиана выживаемости в среднем 13,8 года [2].

Клинический случай

Пациент П.А.М. 53 лет заболел в июне 2015 г., когда увеличились обе грудные железы. 17.09.2015 в условиях ГБУЗ «Самарский областной онкологический диспансер» ему выполнено иссечение гиперплазированных грудных желез. При гистологическом исследовании обнаружены признаки гинекомастии: гиперплазия соединительной ткани и разрастание железистых ходов, средних и мелких протоков. При обследовании выявлены незначительный лейкоцитоз до $12,1 \times 10^9/\text{л}$, повышение концентрации пролактина до 539,84 мМЕ/л

Сведения об авторах:

Лебедев Петр Алексеевич – д.м.н., проф., зав. каф. терапии Института профессионального образования ФГБОУ ВО СамГМУ. ORCID: 0000-0003-1404-7099

Россиев Виктор Анатольевич – к.м.н., зав. гематологическим отделением по 23.12.2019, врач-гематолог ГБУЗ «СОКБ им. В.Д. Середавина»

Федорова Елена Юрьевна – врач-гематолог гематологического отделения ГБУЗ «СОКБ им. В.Д. Середавина»

Николаева Анна Сергеевна – зав. гематологическим отделением, врач-гематолог гематологического отделения ГБУЗ «СОКБ им. В.Д. Середавина»

(норма 73–407 мМЕ/л), снижение общего тестостерона до 9,84 нмоль/л (норма 12–28 нмоль/л). Данных о новообразовании яичек, надпочечников не получено.

С октября 2015 г. стал отмечать слабость, тяжесть и боль в стопах, голенях при движении и в покое, повышение температуры тела до 37,2°C.

При обследовании у невролога выявлены повышение содержания гемоглобина до 175 г/л и эритроцитов до $6,42 \times 10^{12}/\text{л}$, на магнитно-резонансной томографии поясничного отдела позвоночника признаки межпозвоночного остеохондроза, спондилоартроза – протрузия межпозвоночного диска L4–L5, грыжа межпозвоночного диска L5–S1. При электромиографии (28.12.2015) выявлен демиелинизирующий характер процесса, грубее в нижних конечностях; диффузный корешковый характер процесса на уровне С4–С6 с 2 сторон с раздражением на уровне L4–L5 с 2 сторон.

Проведено удаление грыжи диска L5 слева. Несмотря на проведенное оперативное лечение, в феврале 2016 г. стопы «провисли», появились отеки ступней, голеней, нарушилась ходьба, стал отмечать прогрессирующее похудение. В апреле 2016 г. госпитализирован в неврологическое отделение ГБУЗ «СОКБ им. В.Д. Середавина», где установлен диагноз: хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия (ХВДП), сенсорно-моторная форма со стойкими выраженными двигательными нарушениями в виде периферического дистального тетрапареза.

В результате лечения (пульс-терапия преднизолоном, тиоктовая кислота, мексидол, спиринолактон, физиотерапия) достигнуто улучшение, рекомендовано продолжение приема преднизолона амбулаторно с последующим постепенным снижением.

В течение 6 мес. дважды госпитализирован с ухудшением состояния после снижения дозы преднизолона.

В январе 2017 г. в период снижения дозировки глюкокортикостероидов пациент стал испытывать затруднения при подъеме с кровати, появились онемение и отеки сначала кистей, а затем туловища, лица, снизился суточный диурез, температура тела поднялась до 37,8°C.

При поступлении в неврологическое отделение ГБУЗ «СОКБ им. В.Д. Середавина» состояние больного оценивалось как тяжелое, самостоятельно не передвигался, при осмотре выявлены диффузная гиперпигментация кожи, генерализованные отеки, увеличение шейных, подмышечных, над- и подключичных, паховых лимфатических узлов до 2 см. В анализе крови: эритроцитоз до $6,7 \times 10^{12}/\text{л}$, повышение содержания гемоглобина до 175 г/л. При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости – увеличение размеров печени и селезенки (площадь 83 см²). На компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки – диффузный пневмосклероз и интерстициальные изменения в заднебазальных отделах нижних долей легких; в средостении определялись увеличенные лимфоузлы до 1,4 см. КТ органов брюшной полости выявила гепатоспленомегалию, лимфоаденопатию брюшной полости и забрюшинного пространства, асцит.

Выделен ведущий синдром – полиневропатия в сочетании с отеками и органомегалией (генерализованная лимфаденопатия, гепато-, спленомегалия). Полисистемность клинических проявлений и отсутствие положительной динамики от стандартного лечения ХВДП позволило исключить эту группу заболеваний.

Контактная информация:

Паранина Елена Владимировна – к.м.н., доц., каф. терапии Института профессионального образования ФГБОУ ВО СамГМУ. Тел.: +7(927)-201-79-79; eles77@list.ru; ORCID: 0000-0001-7021-4061

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

125167, г. Москва,
Новозыковский пр-д, 4

Лаборатория гуморального иммунитета

Тел./факс: (495)613-24-21
E-mail: gammopat@blood.ru

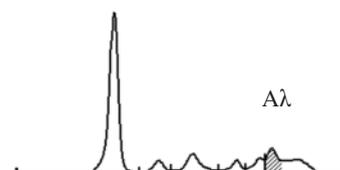
Результаты иммунохимического исследования белков сыворотки крови и мочи

Дата: 06.04.2017 ФИО пациента

Учреждение, отделение Самарская ОКБ

Электрофоретическое исследование белков сыворотки крови

Белковые фракции	%	Норма (%)
Альбумин	50,1 -	55,8 (66,1)
Глобулины		
α_1	5,6+ +	2,9 (4,9)
α_2	11,7	7,1 (11,8)
β	11,9	7,9 (13,7)
γ	20,7+ +	11,1 (18,8)



Примечание. М-градиент в γ 1-зоне образован парапротеином Аλ и составляет 10,3% от общего белка сыворотки крови, или 5,5 г/л (подтверждено в иммунофиксации).

Количественное исследование белков сыворотки крови

Показатель	Значение	Норма	Метод
Общий белок	53	65–85 г/л	Биуретовый
IgG	123	95–235 МЕ/мл	РИД
IgA	576	55–250 МЕ/мл	РИД
IgM	97	60–405 МЕ/мл	РИД
к/л	0,7	1,1–2,9	РИД
Криоглобулины	Нет	Нет	Инкубация при температуре 4°C
β_2 -m	5,07	<2,4 мг/л	Нефелометрия
С-реактивный белок	2,88	<6,0 мг/л	Нефелометрия

Электрофоретическое исследование белков концентрированной мочи:

следы альбумина. Белок Бенс-Джонса не выявлен.

Заключение. Моноклональная секреция Аλ (5,5 г/л). Признаков иммунодефицита нет. Белок Бенс-Джонса не выявлен. Повышено содержание β_2 -микроглобулина, показатель С-реактивный белок в пределах нормы.

Рис. 1. Иммунохимическое исследование сыворотки крови и мочи больного П.А.М. от 06.04.2017.

Примечание. Ig – иммуноглобулин, РИД – реакция иммунодиффузии.

Для исключения лимфопролиферативного заболевания выполнено иммунохимическое исследование сыворотки крови и мочи. Обнаружена моноклональная секреция Аλ в количестве 5,5 г/л (10,3% от общего количества белка); рис. 1, в моче белок Бенс-Джонса не обнаружен, а в миелограмме от 06.04.2017 выявлено 23,2% плазмочитов. В отличие от множественной миеломы у больного не зафиксировано болей в костях, анемии, признаков костных деструкций и поражения почек, концентрация кальция и креатинина сыворотки крови в пределах нормы, общий белок снижен. Моноклональная гаммапатия неочеченного значения (MGUS) и макроглобулинемия Вальденстрема также сопровождаются секрецией моноклонального белка, но, в отличие от РОEMS-синдрома, они не связаны с симптомами повреждения органов.

Системность поражения, вовлечение периферической нервной системы, наличие отеков, а также секреция легких λ-цепей характерны для первичного амилоидоза. Результат гистологического исследования фрагмента слизистой щęki

и кожи бедра – фиброзная ткань с очаговой периваскулярной крупноклеточной воспалительной инфильтрацией, реакция с конго красным отрицательная – позволил отвергнуть этот диагноз.

Учитывая полиморфную клиническую картину, особенно наличие прогрессирующей полиневропатии в сочетании с моноклональной секрецией и данные анамнеза (гинекомастия в дебюте заболевания), высказано предположение о развитии у больного РОEMS-синдрома, и проведено повторное исследование гормонального статуса (см. таблицу).

Таким образом, у больного последовательно обнаружено несколько групп клинических, лабораторных и инструментальных симптомокомплексов. Заболевание дебютировало с эндокринных нарушений. Кроме гинекомастии у пациента выявлены гиперпролактинемия, гипогонадизм, дисфункция щитовидной железы – субклинический гипотиреоз.

Поражение периферической нервной системы проявилось демиелинизирующей сенсорно-моторной полиневропатией с преобладанием моторных нарушений в виде тетрапа-

Исследование гормонов сыворотки крови больного П.А.М. от 28.04.2017

Показатель	Значение	Норма
Тиреотропный гормон	6,2 мкМЕ/мл	0,3–4,0 мкМЕ/мл
Пролактин	798,1 мМЕ/л	57–600 мМЕ/л
Эстрадиол	94,7 пг/мл	7,9–81,6 пг/мл
Тестостерон общий	3,1 нмоль/л	4,5–35,4 нмоль/л

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России
125167, г. Москва,
Новозыковский пр-д, 4

ЦКДЛ, группа гуморального иммунитета
Тел./факс: (495)613-24-21
E-mail: gammopat@blood.ru

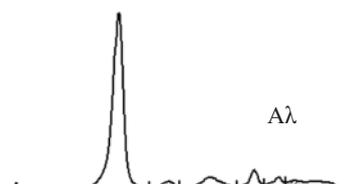
Результаты иммунохимического исследования белков сыворотки крови и мочи

Дата: 21.03.2019 ФИО пациента

Учреждение, отделение Самарская ОКБ

Электрофоретическое исследование белков сыворотки крови

Белковые фракции	%	Норма (%)
Альбумин	65,2	55,8 (66,1)
Глобулины		
α ₁	3,6	2,9 (4,9)
α ₂	9,3	7,1 (11,8)
β	11,2	7,9 (13,7)
γ	10,7-	11,1 (18,8)



Примечание. Следовой М-градиент в γ1-зоне за счет парапротеина Аλ (подтверждено в иммунофиксации).

Количественное исследование белков сыворотки крови

Показатель	Значение	Норма	Метод
IgG	84	95–235 МЕ/мл	РИД
IgA	258	55–250 МЕ/мл	РИД
IgM	40	60–405 МЕ/мл	РИД
κ/λ	1,1	1,1–2,9	РИД
Криоглобулины	Нет	Нет	Инкубация при температуре 4°C

Электрофоретическое исследование белков концентрированной мочи:
следы альбумина. Белок Бенс-Джонса не выявлен.

Заключение. Следовая моноклональная секреция Аλ. Вторичная гипогаммаглобулинемия. Белок Бенс-Джонса не выявлен. По сравнению с исследованием от 05.09.2018 – дальнейшее снижение уровня секреции Аλ от 3,0 г/л до следового количества.

Рис. 2. Иммунохимическое исследование сыворотки крови и мочи больного П.А.М. от 21.03.2019.

реза преимущественно в дистальных отделах конечностей, более выраженного в нижних конечностях.

Гепатомегалия, спленомегалия, генерализованная лимфаденопатия периферических и висцеральных лимфатических узлов составили следующий симптомокомплекс – органомегалию, подтвержденную ультразвуковым исследованием и КТ.

При исследовании миелограммы обнаружено 23,2% плазматических клеток, при иммунохимическом анализе сыворотки крови выявлены диспротеинемия, связанная с воспалением, моноклональная секреция Аλ.

Кроме того, у больного отмечены менее яркие, но также значимые дополнительные симптомы: гиперпигментация кожи, незначительные эритроцитоз и повышение содержания гемоглобина, гипопропротеинемия и интерстициальные изменения в легких.

Итак, совокупность разнообразных признаков укладывалась в характерную клиническую картину РОEMS-синдрома: диагностированы 2 обязательных больших критерия из 3 – демиелинизирующая полиневропатия и моноклональная секреция парапротеина и почти все малые критерии (органомегалия, полиэндокринопатия, поражение кожи, отечный синдром, а также эритроцитоз).

Лечение РОEMS-синдрома проводилось по программам лечения множественной миеломы.

Больному П.А.М. назначено лечение по протоколу BVD (бортезомиб, бендамустин, дексаметазон). В результате терапии улучшился неврологический статус: появились активные движения в голеностопных суставах, пальцах стоп, больной начал самостоятельно передвигаться; улучшилась точность движений в кистях, уменьшилась выраженность

периферической лимфаденопатии, сократились размеры печени и селезенки, регрессировал отечный синдром.

Эндокринопатия имела неоднозначную динамику: количество тестостерона нормализовалось, но сохранялась высокая концентрация в крови пролактина и эстрадиола.

В связи с сохраняющейся секрецией парапротеина Аλ (8,4% от общего количества белка), плазмоцитозом в костном мозге 20,8% и УЗ-признаками гепато- и спленомегалии больному изменена схема лечения: назначен леналидомид в сочетании с дексаметазоном по схеме Rd (леналидомид 25 мг/сут в 1–21-й дни, дексаметазон 40 мг/сут в 1, 8, 15 и 22-й дни 28-дневного цикла).

В результате лечения в течение последующих лет отмечена положительная динамика: при иммунохимическом исследовании выявляется только следовая секреция парапротеина (рис. 2), состояние удовлетворительное, передвигается самостоятельно, активен. Больной продолжает лечение.

Обсуждение

В описанных в литературе клинических случаях в дебюте РОЕМС-синдрома чаще всего встречались у мужчин эректильная дисфункция и гинекомастия [6], гиперпролактинемия примерно у 1/4 пациентов. В приведенном клиническом

случае эндокринологические проявления РОЕМС-синдрома либо слабо выражены (субклинический гипотиреоз), либо рассматривались изолированно (гинекомастия), поэтому первоначально не отмечены как симптомы одного заболевания.

Второй по времени развития, но в итоге оказавшийся ведущим синдром у данного больного – это полиневропатия. Поскольку ее клинические проявления не имели никаких особенностей, а результаты электромиографии соответствовали критериям ХВДП, это привело к тому, что в дебюте заподозрить наличие у пациента РОЕМС-синдрома оказалось невозможно.

Заключение

Прогноз заболевания определяется своевременностью установления диагноза и начала терапии. Приведенный клинический случай демонстрирует сложность диагностики РОЕМС-синдрома, которая объясняется многогранностью клинических проявлений, на первый взгляд имеющих между собой мало общего. Своевременная диагностика и назначение противоопухолевого лечения привели к стабилизации состояния, регрессу неврологических и других симптомов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bardwick P, Zvaifler N, Gill G, et al. Plasma Cell Dyscrasia with Polyneuropathy, Organomegaly, Endocrinopathy, M Protein, and Skin Changes. *Medicine*. 1980;59(4):311-22. doi: 10.1097/00005792-198007000-00006
2. Dispenzieri A, Kyle RA, Lacy MQ, et al. POEMS syndrome: definitions and long-term outcome. *Blood*. 2003;101(7):2496-506. doi: 10.1182/blood-2002-07-2299
3. Nakanishi T, Sobue I, Toyokura Y, et al. The Crow-Fukase syndrome: A study of 102 cases in Japan. *Neurology*. 1984;34(6):712. doi: 10.1212/wnl.34.6.712
4. Дмитриева О.С., Шиловский И.П., Хайтов М.Р., Гривенников С.И. ИЛ-1 и ИЛ-6 – главные медиаторы воспаления при развитии рака. *Биохимия*. 2016;81(2):166-78 [Dmitrieva O, Shilovskiy I, Khaitov M, Grivennikov S. Interleukins 1 and 6 as main mediators of inflammation and cancer. *Biochemistry (Moscow)*. 2016;81(2):80-90 (In Russ.)]. doi: 10.1134/s0006297916020024
5. Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto N, et al. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. *Blood*. 1989;74(4):1360-7. doi: 10.1182/blood.v74.4.1360.bloodjournal7441360
6. Santos G, Lestre S, Joao A. Do you know this syndrome? POEMS syndrome. *An Bras Dermatol*. 2013;88(6):1009-10. PMID: 24474120. doi: 10.1590/abd1806-4841.20132266

Поступила 18.01.2020

К статье А.В. Смирнова и соавт. «Моноклональная гаммапатия ренального значения: консенсус гематологов и нефрологов России по введению нозологии, диагностике и обоснованности клон-ориентированной терапии» (с. 10)

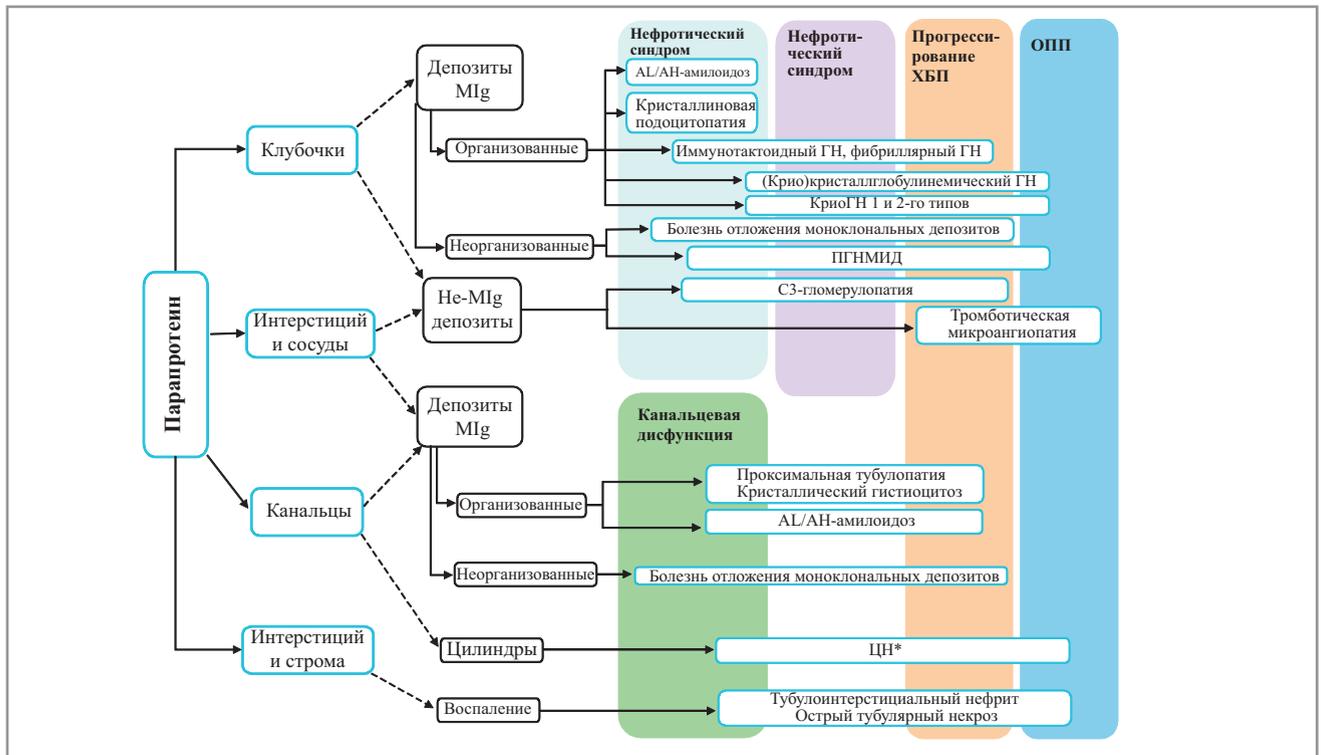


Рис. 3. Патоморфологические варианты поражения почек, обусловленные парапротеином, и их клиническая манифестация.
 Примечание. К вариантам повреждения почек, связь которых с МГ пока не имеет достаточной доказательной базы, относят: ГН, ассоциированный с антителами к гломерулярной базальной мембране (анти-ГБМ ГН); МН, в том числе ассоциированную с антителами к рецептору фосфолипазы А₂; IgA-нефропатию при болезни Шенляйна–Геноха, ассоциированную с МIg [2]. ПГНМИД – пролиферативный ГН с отложением МIg. *ЦН в основном возникает при избыточной продукции ЛЦ при ММ, не относится к МГРЗ.

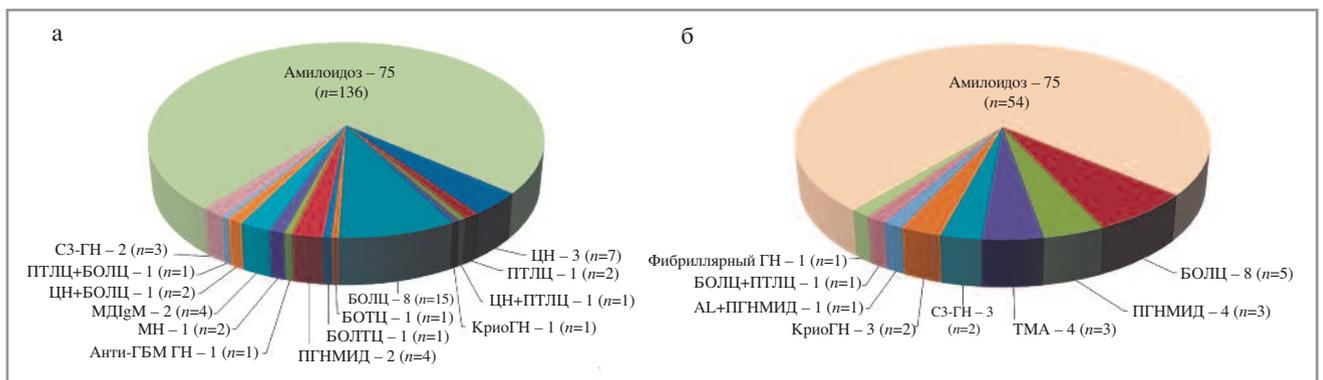


Рис. 4. Спектр нефропатий, ассоциированных с МIg (%): а – по данным отделения нефрологии ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина» (n=181); б – по данным клиники НИИ нефрологии ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» (n=72).
 Примечание. AL – AL-амилоидоз, С3-ГН – С3-гломерулонефрит, БОЛТЦ – болезнь отложения ЛЦ и тяжелых цепей, БОЛЦ – болезнь отложения ЛЦ, БОТЦ – болезнь отложения тяжелых цепей, МДIgM – ГН, вызванный моноклональными депозитами IгM, ПТЛЦ – проксимальная тубулопатия, ассоциированная с ЛЦ, ТМА – тромботическая микроангиопатия, ассоциированная с МГ.

К статье Л.А. Кузьминой и соавт. «Применение мультипотентных мезенхимных стромальных клеток для лечения острой реакции «трансплантат против хозяина»» (с. 23)

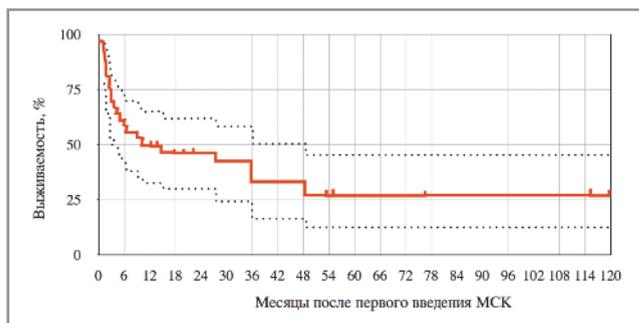


Рис. 1. ОВ пациентов с резистентной к терапии ОРТПХ, с использованием МСК.

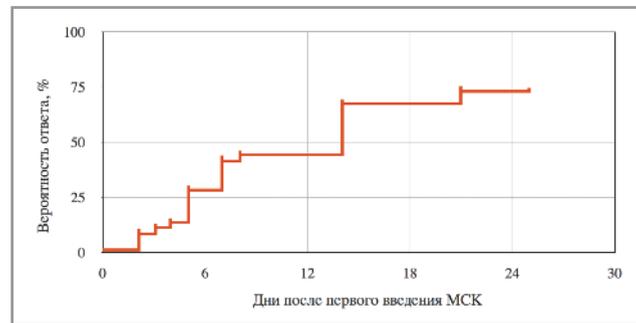


Рис. 2. Время до достижения ответа на терапию с использованием МСК.

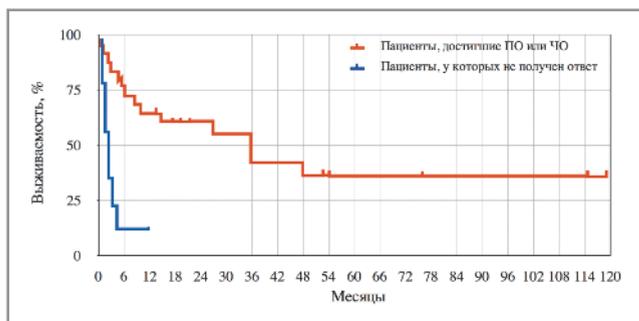


Рис. 3. Вероятность ОВ в зависимости от ответа.

К статье В.В. Птушкина и соавт. «Результаты открытого многоцентрового клинического исследования Ib фазы по оценке безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики первого биоаналога экулизумаба у нелеченых пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией в фазе индукции терапии» (с. 77)

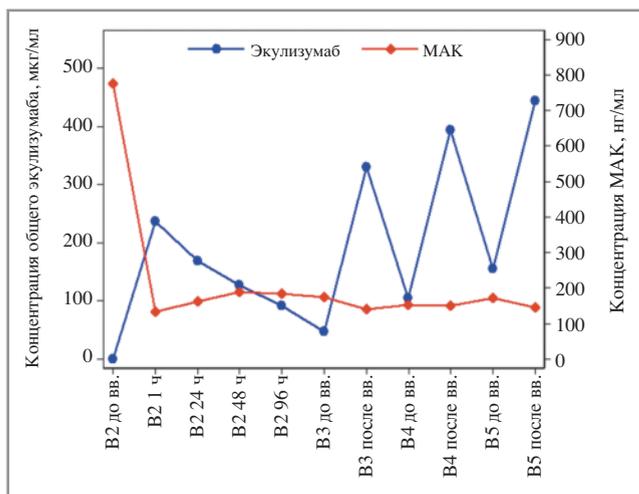


Рис. 2. Динамика концентрации общего экулизумаба и концентрации МАК.

Примечание. В – визит, вв. – введение.

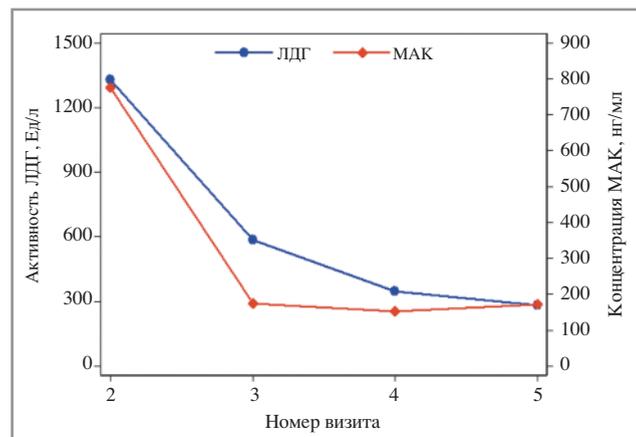


Рис. 3. Динамика концентрации МАК и активности ЛДГ в ходе исследования.

К статье *К.И. Зарубиной и соавт.* «Исследование активирующих мутаций генов сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK и JAK/STAT при В-клеточных острых лимфобластных лейкозах взрослых» (с. 31)

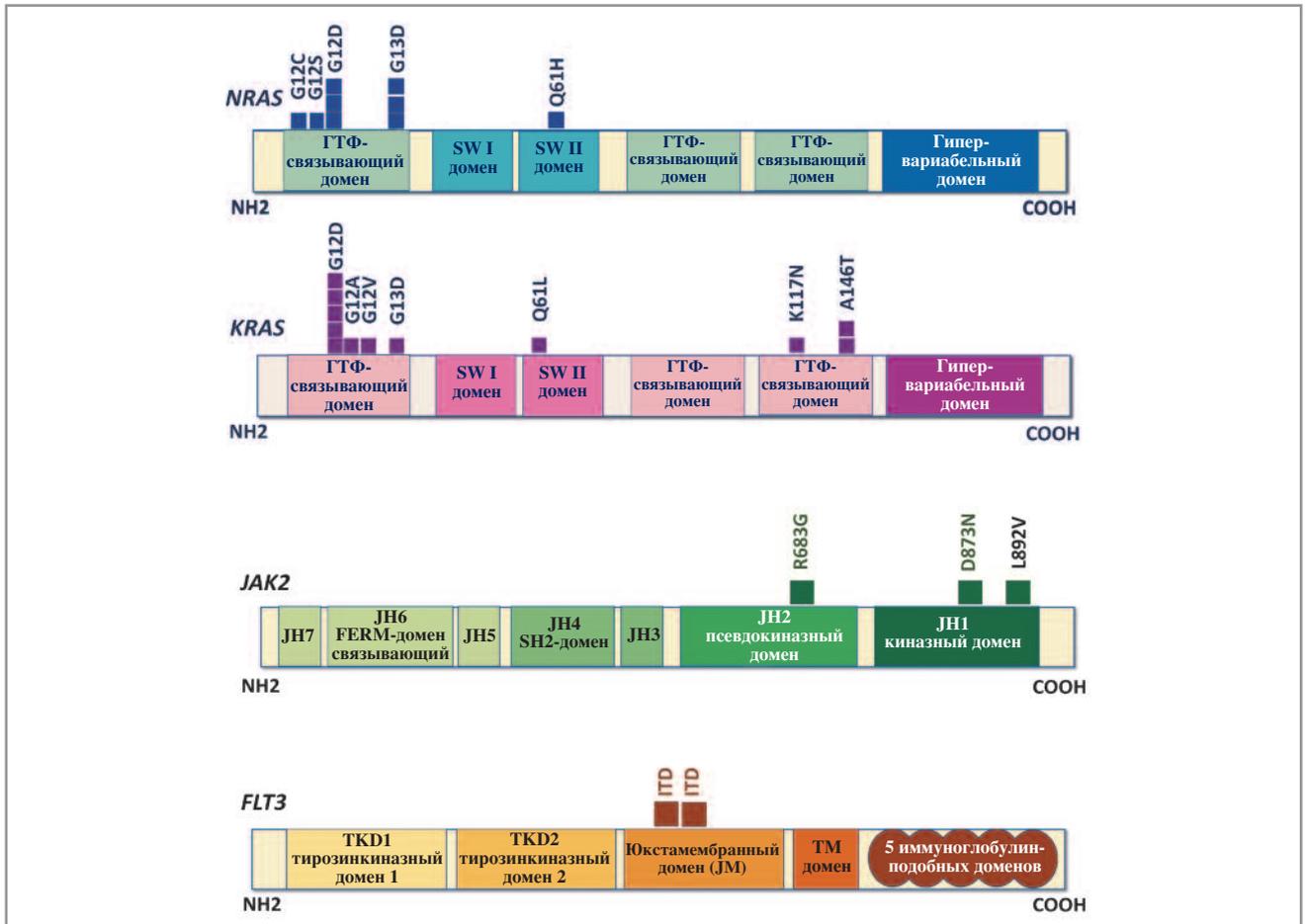


Рис. 1. Распределение миссенс-мутаций генов *NRAS*, *KRAS*, *JAK2* и внутренних тандемных повторов гена *FLT3*.

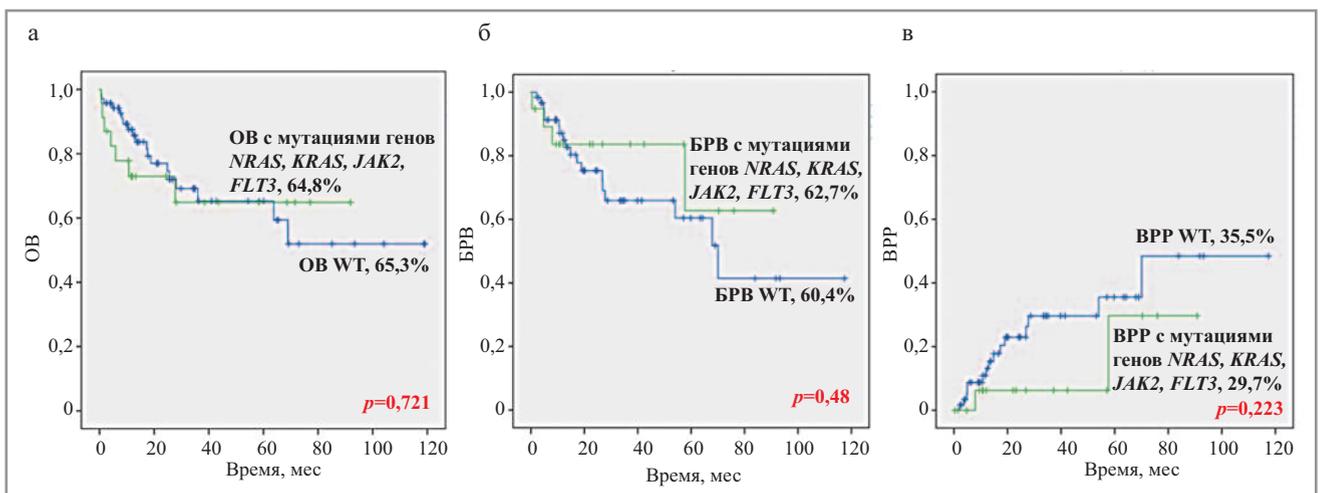


Рис. 2. Выживаемость больных *BCR-ABL1*-негативным ОЛЛ с мутациями генов *NRAS*, *KRAS*, *JAK2* и *FLT3* и без мутаций: а – ОВ; б – БРВ; в – БРР.

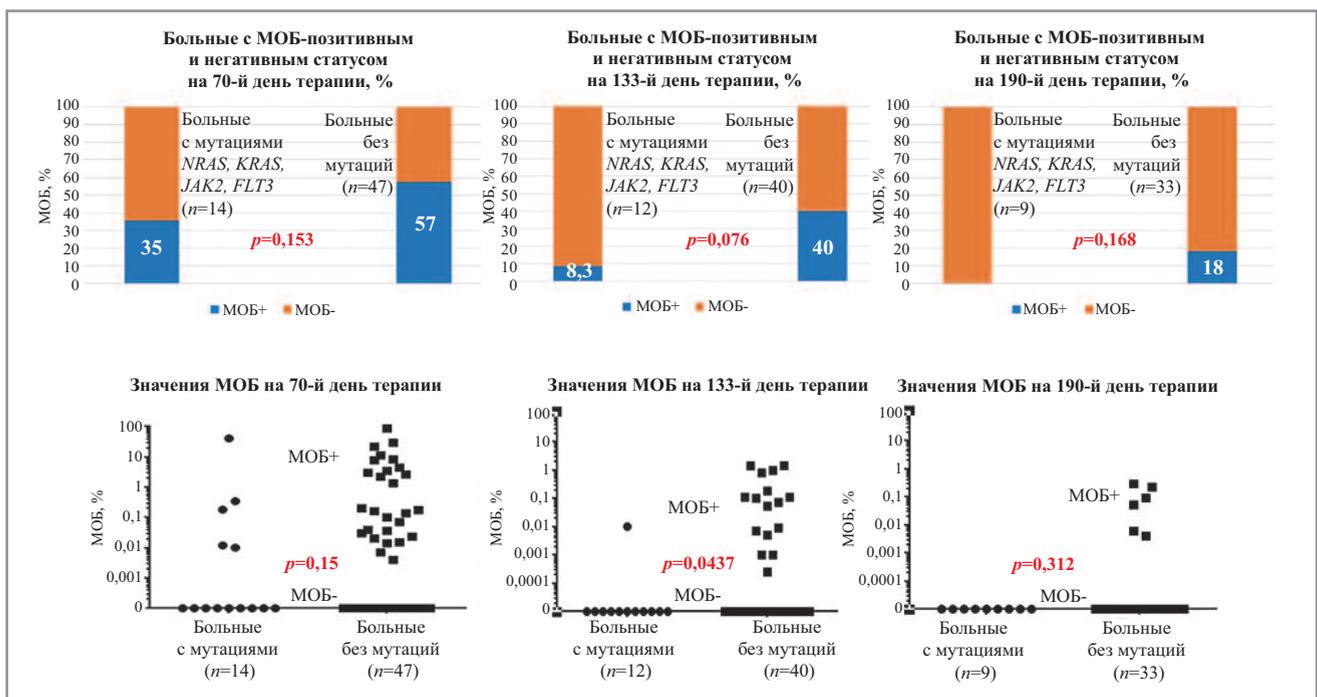


Рис. 3. МОБ на 70, 133 и 190-й дни терапии у больных *BCR-ABL1*-негативным В-ОЛЛ с активирующими мутациями в генах *NRAS, KRAS, JAK2* и *FLT3* и без мутаций.

К статье А.А. Петренко и соавт. «Парвовирус В19 у пациентов с ВИЧ-инфекцией» (с. 100)

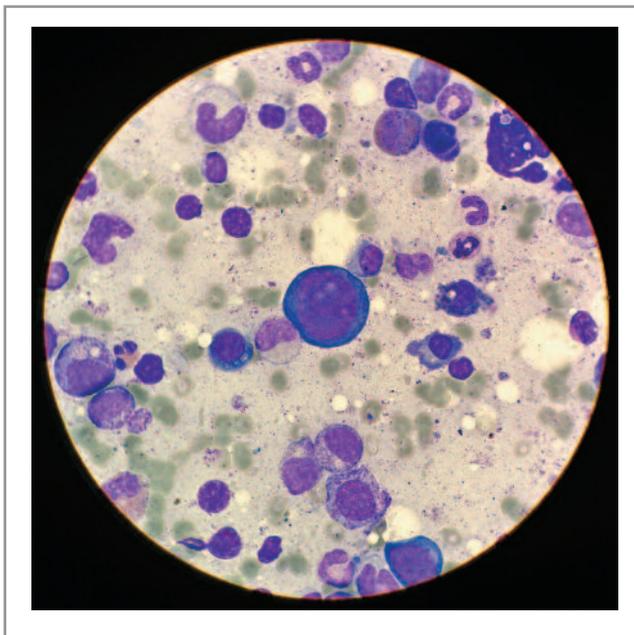


Рис. 1. Мазок костного мозга, окрашенный по Романовскому–Гимзе: в центре гигантский прономобласт с внутриядерными включениями парвовируса и интенсивно синей цитоплазмой (оригинальное увеличение $\times 100$).

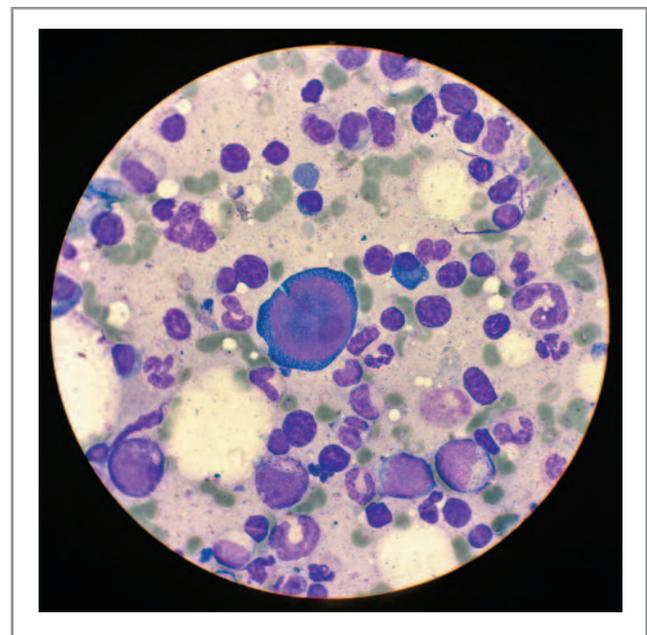


Рис. 2. Образец аспирата костного мозга ВИЧ-инфицированной больной с ПККА, вызванной РVВ19. В центре поля гигантский прономобласт – «клетка-фонарь». Характерны фиолетовое внутриядерное включение, различная интенсивность хроматина по периферии и в центре ядра, а также вакуолизированная цитоплазма (окраска по Романовскому–Гимзе, оригинальное увеличение $\times 100$).

К статье И.Г. Рехтиной и соавт. «Морфологические и иммуногистохимические предикторы почечного ответа на терапию у пациентов с миеломной каст-нефропатией и острым повреждением почек с потребностью в диализе» (с. 63)

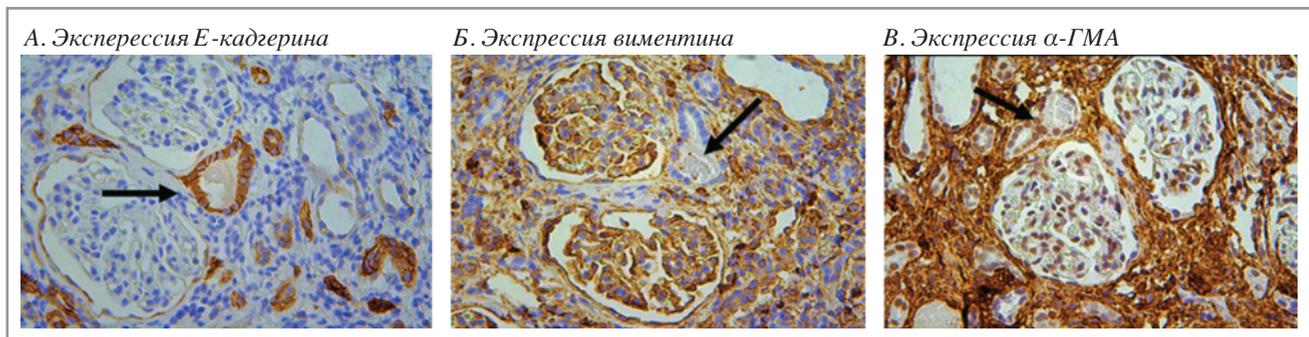


Рис. 1. Иммуногистохимическое исследование биоптата почки у пациента с МКН и острым повреждением почек. *Примечание.* А – реакция с антителами к Е-кадгерину, Б – реакция с антителами к виментину, В – реакция с антителами к α-ГМА. Представлено окрашивание идентичных срезов. Стрелками указан каналец, клетки эпителия которого экспрессируют Е-кадгерин (А) и не экспрессируют виментин (Б) и α-ГМА (В). Световая микроскопия, ×400.

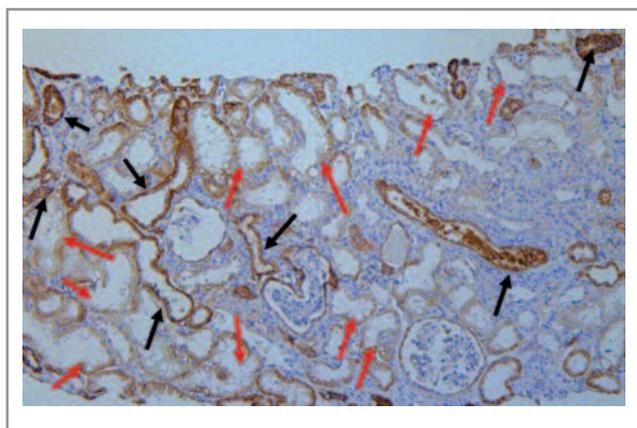


Рис. 2. Экспрессия Е-кадгерина у пациента с МКН и ОПП 3-й стадии. ИГХ-исследование, световая микроскопия, ×100. *Примечание.* Черными стрелками указан пример интенсивной экспрессии Е-кадгерина в дистальных канальцах; красными – пример слабоположительной экспрессии маркера в проксимальном отделе канальцев.

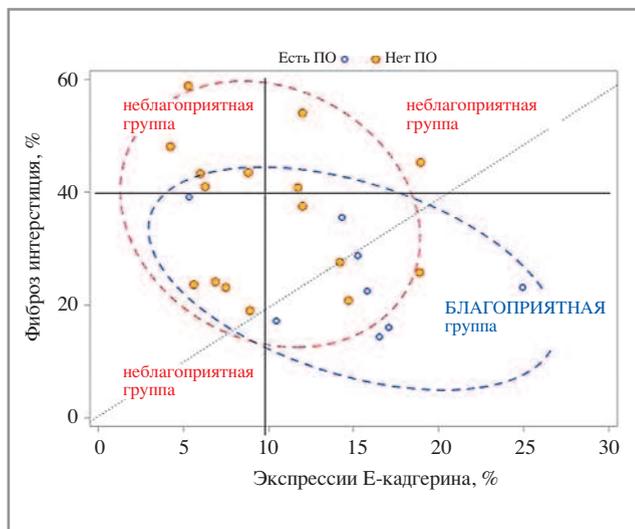


Рис. 3. Суммарное прогностическое значение распространенности фиброза интерстиция и экспрессии Е-кадгерина.

К статье Л.П. Менделеевой и соавт. «Остеодеструктивный синдром как первое проявление системного AL-амилоидоза» (с. 85)

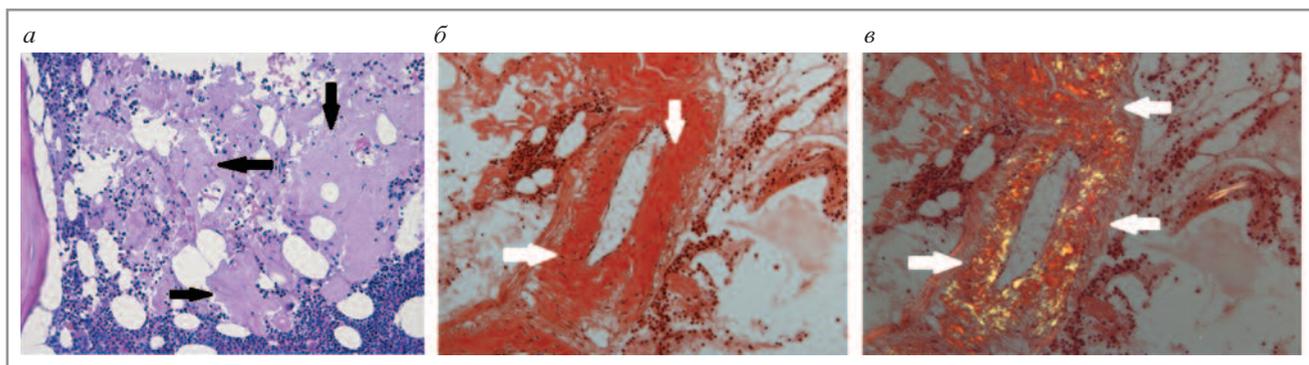


Рис. 4: Гистологический препарат. а – трепанобиоптат костного мозга. В трепанобиоптате интерстициально присутствуют массивные депозиты аморфного бесструктурного эозинфильного матрикса. Окраска гематоксилином и эозином, ×200; б – трепанобиоптат костного мозга. В стенке артериолярного сосуда отмечаются гомогенные конгофильные массы. Гистохимическая окраска конго красным, ×400; в – трепанобиоптат костного мозга. В стенке артериолярного сосуда конгофильные депозиты при исследовании в поляризованном свете характеризуются двойкопреломляющим зеленоватым свечением. Окраска конго красным, ×400.

К статье М.А. Гурьяновой и соавт. «Успешный опыт длительного наблюдения больных хроническим миелоидным лейкозом с глубоким молекулярным ответом на сниженных дозах ингибиторов тирозинкиназ II поколения: описание клинических случаев и обзор литературы» (с. 90)



Рис. 1. Проявления кожной токсичности: акнеформная сыпь, гиперпигментация кожи лица на терапии нилотинибом в дозе 800 мг/сут.*



Рис. 2. Разрешение проявлений кожной токсичности в результате снижения дозы нилотиниба до 200 мг/сут.*

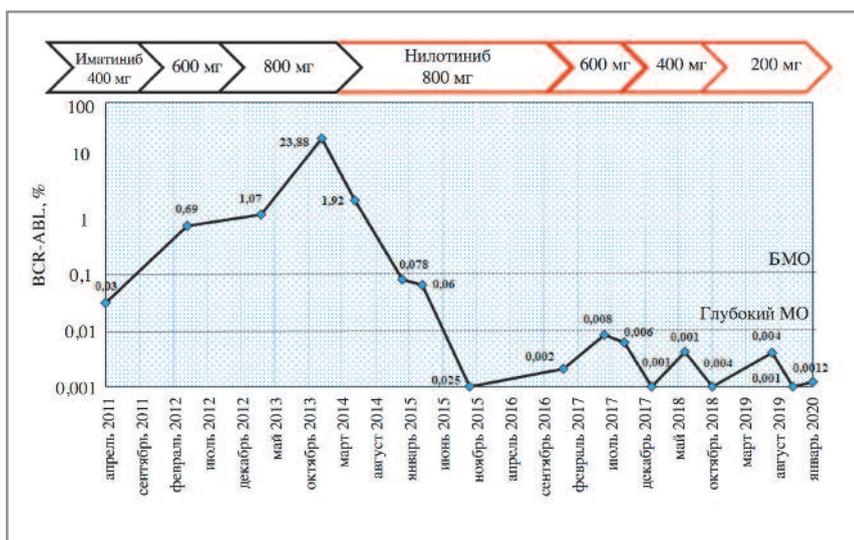


Рис. 3. Динамика BCR-ABL/ABL p210 во время терапии иматинибом и нилотинибом (клиническое наблюдение 1).

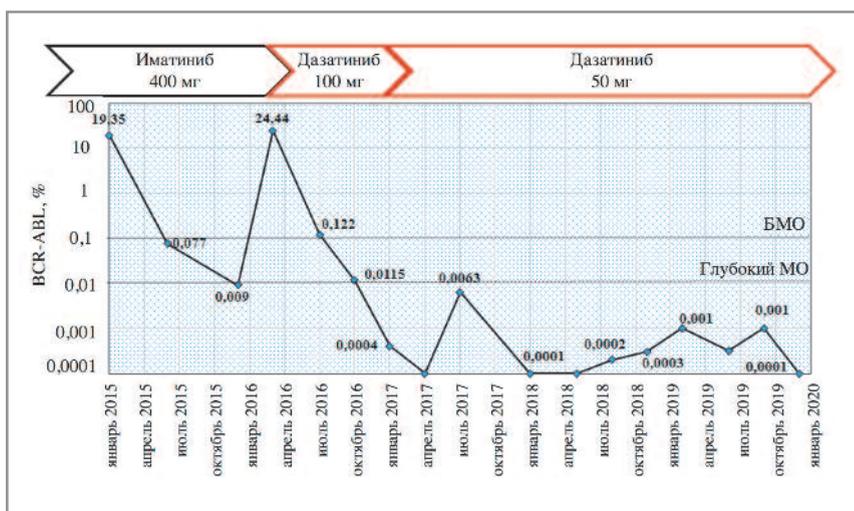


Рис. 4. Динамика соотношения BCR-ABL/ABL p210 во время терапии иматинибом и дазатинибом (клиническое наблюдение 2).

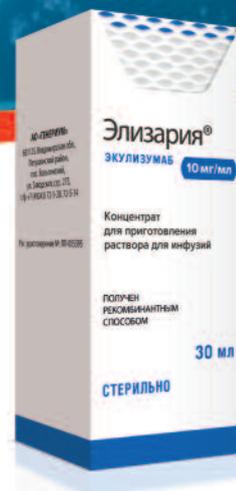
* Согласие больной на публикацию фотографий получено.

Я живу!



ЭЛИЗАРИЯ® ЭКУЛИЗУМАБ

- Первый биоаналог экулизумаба*
- Быстро и стабильно снижает активность терминального комплекса комплемента*
- Предотвращает внутрисосудистый гемолиз у больных пароксизмальной ночной гемоглобинурией*
- Улучшает качество жизни пациентов*



Краткая инструкция по медицинскому применению препарата Элизария®. Регистрационный номер: ЛП-005395-110319. **Фармакодинамика.** Экулизумаб подавляет активность терминального комплекса комплемента человека, обладая высокой аффинностью к его C5-компоненту, вследствие чего полностью блокируется расщепление компонента C5 на C5a и C5b и образование терминального комплекса комплемента C5b-9. Таким образом, экулизумаб восстанавливает регуляцию активности комплемента в крови и предотвращает внутрисосудистый гемолиз у пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией (ПНГ), а также предотвращает избыточную активность терминального комплекса у пациентов с атипичным гемолитико-уремическим синдромом (аГУС), где причиной заболевания является генетически обусловленная дисрегуляция системы комплемента. С другой стороны, дефицит терминального комплекса комплемента сопровождается повышенной частотой развития инфекций инкапсулированными микроорганизмами, главным образом, менингококковой инфекции. При этом экулизумаб поддерживает содержание ранних продуктов активации комплемента, необходимых для опсонизации микроорганизмов и выведения иммунных комплексов. Лечение препаратом Элизария® сопровождается быстрым и стабильным снижением активности терминального комплекса комплемента. **Показания к применению.** Препарат Элизария® показан для лечения пациентов с: пароксизмальной ночной гемоглобинурией (ПНГ). Эффективность экулизумаба подтверждена у пациентов с гемолизом и сопутствующими клиническими симптомами, свидетельствующими о высокой активности заболевания, вне зависимости от потребности в гемотрансфузиях в анамнезе; атипичным гемолитико-уремическим синдромом (аГУС). **Противопоказания для применения.** Повышенная чувствительность к экулизумабу, белкам соевых или другим компонентам препарата. Период грудного вскармливания. Активная инфекция *Neisseria meningitidis*. Отсутствие вакцинации против *Neisseria meningitidis* (если нет соответствующей профилактической антибиотикотерапии в течение 2 недель после вакцинации). **Способ применения и дозы.** Внутривенно капельно в течение 25–45 минут для взрослых и в течение 1–4 часов для пациентов детского возраста. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия: курс лечения для взрослых пациентов (≥ 18 лет) включает 4-недельный начальный цикл с последующим циклом поддерживающей терапии. Начальный цикл: 600 мг препарата Элизария® 1 раз в неделю в течение 4 недель. Поддерживающая терапия: 900 мг препарата Элизария® на 5-й неделе, с последующим введением 900 мг препарата Элизария® каждые 14 ± 2 дней. Атипичный гемолитико-уремический синдром: курс лечения для взрослых пациентов (≥ 18 лет) включает 4-недельный начальный цикл с последующим циклом поддерживающей терапии. Начальный цикл: 900 мг препарата Элизария® 1 раз в неделю в течение 4 недель. Поддерживающая терапия: 1200 мг препарата Элизария® на 5-й неделе, с последующим введением 1200 мг препарата Элизария® каждые 14 ± 2 дней. **Применение в педиатрии.** Для пациентов с ПНГ и аГУС моложе 18 лет доза препарата Элизария® определяется в зависимости от веса ребенка. **Побочные действия.** Наиболее частым нежелательным явлением при лечении экулизумабом являлась головная боль (отмечалась, главным образом, в начальном цикле терапии). Наиболее тяжелым нежелательным явлением являлся менингококковый сепсис. **Организация, принимающая претензии по качеству и сообщения о нежелательных реакциях от потребителей:** АО «ГЕНЕРИУМ», 601125, Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский, ул. Заводская, стр. 273, т/ф +7 (49243) 72-5-20, 72-5-14, pv@generium.ru.

Для получения более подробной информации ознакомьтесь с полной инструкцией по медицинскому применению лекарственного препарата Элизария® перед его назначением.

Материал предназначен для специалистов здравоохранения.

*Отчет о клиническом исследовании III фазы, № ECU-PNH-III, 2018. – 285 с.

Реклама

АО «ГЕНЕРИУМ». 123112, г. Москва, ул. Тестовская, д. 10, подъезд 2
Тел./факс: +7 (495) 988-47-94, www.generium.ru

 **Generium**
Pharmaceutical