



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/5377 (2024.08); A61K 39/395 (2024.08); A61P 37/06 (2024.08)

(21)(22) Заявка: 2022129596, 15.11.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
15.11.2022

Дата регистрации:  
14.01.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 15.11.2022

(43) Дата публикации заявки: 15.05.2024 Бюл. № 14

(45) Опубликовано: 14.01.2025 Бюл. № 2

Адрес для переписки:

125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4,  
Паровичникова Елена Николаевна

(72) Автор(ы):

Дроков Михаил Юрьевич (RU),  
Масликова Ульяна Владиславовна (RU),  
Хамаганова Екатерина Георгиевна (RU),  
Камельских Денис Владимирович (RU),  
Васильева Вера Алексеевна (RU),  
Кузьмина Лариса Анатольевна (RU),  
Гапонова Татьяна Владимировна (RU),  
Паровичникова Елена Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
учреждение "Национальный медицинский  
исследовательский центр гематологии"  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации (ФГБУ "НМИЦ гематологии"  
Минздрава России) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете

о поиске: МАСЛИКОВА У. В. и др.  
Несостоятельности трансплантата у  
реципиентов аллогенных гемопоэтических  
стволовых клеток: диагностика и лечение //  
Вестник медицинского института "Реавиз":  
реабилитация, врач и здоровье. - 2023, Т. 13 (1),  
С.114-125. RU 2454247 C1, 27.06.2012. WO  
2002070010 A1, 12.09.2002. CIUREA S.O. et al.  
Treatment of allosensitized (см. прод.)

(54) Способ профилактики несостоятельности трансплантата аллогенного костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток при наличии у реципиента донор-специфичных анти-HLA антител

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к трансплантологии, и может быть использовано для профилактики несостоятельности трансплантата аллогенного костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток при наличии у реципиента донор-специфичных анти-HLA антител. Способ включает однократную инфузию анти-CD20 моноклонального антитела, пероральный прием ингибитора инозинмонофосфатдегидрогеназы и

выполнение двух плазмаферезов реципиентам с заболеванием системы крови при наличии донор-специфичных антител (ДСА) со средней интенсивностью флюоресценции (MFI), превышающей 5000. Анти-CD20 моноклональное антитело представляет собой антитело, которое связывается с CD20 рецептором на В-клетках и инициирует лизис клеток, вследствие чего не образуются плазматические клетки, при этом указанную инфузию выполняют за 15 дней до

введения реципиенту аллогенного костного мозга или ГСК. Ингибитор инозинмонофосфатдегидрогеназы представляет собой лимфостатический препарат с функцией подавления пролиферации В-лимфоцитов и блокирования образования ДСА данными клетками, при этом указанный прием осуществляют со 2-й недели до трансплантации аллогенного костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в непрерывном режиме до 3 месяцев после введения клеток реципиенту аллогенного костного мозга или ГСК. Плазмаферезы выполняют не менее 1 объема циркулирующей крови каждый, за сутки и в день введения аллогенного костного мозга или ГСК. Использование изобретения позволяет достичь

элиминации или значительного снижения уровня анти-HLA-антител до допустимых значений - менее 5000 MFI в сыворотке крови реципиента ГСК к дню трансплантации аллогенного костного мозга или ГСК, за счет комплексного действия, проявляющегося разрушением синтезирующих антитела В-клеток, торможением выработки антител оставшимися В-клетками, механическим удалением ДСА методом плазмафереза и связывания ДСА подобранными по фенотипу концентратами тромбоцитов, тем самым снижая риск развития несостоятельности трансплантата, аллергических реакций, повышая эффективность лечения и уменьшая продолжительность наблюдения пациента в условиях стационара. 3 з.п. ф-лы, 1 ил., 1 табл., 4 пр.

(56) (продолжение):

patients receiving allogeneic transplantation. Blood Adv [Internet]. 2021 Oct 26 [cited 2021 Nov 16]; 5 (20): 4031-43. LEFFELL M.S. et al. Donor HLA-specific Abs: to BMT or not to BMT? Bone Marrow Transplant [Internet]. 2015 Jun 23; 50 (6): 751-8.

RU 2833126 C2

RU 2833126 C2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*A61K 31/5377* (2006.01)  
*A61K 39/395* (2006.01)  
*A61P 37/06* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 31/5377 (2024.08); A61K 39/395 (2024.08); A61P 37/06 (2024.08)*(21)(22) Application: **2022129596, 15.11.2022**(24) Effective date for property rights:  
**15.11.2022**Registration date:  
**14.01.2025**

Priority:

(22) Date of filing: **15.11.2022**(43) Application published: **15.05.2024 Bull. № 14**(45) Date of publication: **14.01.2025 Bull. № 2**

Mail address:

**125167, Moskva, Novyj Zykovskij pr-d, 4,  
Parovichnikova Elena Nikolaevna**

(72) Inventor(s):

**Drokov Mikhail Iurevich (RU),  
Maslikova Uliana Vladislavovna (RU),  
Khamaganova Ekaterina Georgievna (RU),  
Kamelskikh Denis Vladimirovich (RU),  
Vasileva Vera Alekseevna (RU),  
Kuzmina Larisa Anatolevna (RU),  
Gaponova Tatiana Vladimirovna (RU),  
Parovichnikova Elena Nikolaevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe  
uchrezhdenie «Natsionalnyi meditsinskii  
issledovatel'skii tsentr gematologii» Ministerstva  
zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii (FGBU  
"NMITs gematologii" Minzdrava Rossii) (RU)**(54) **METHOD FOR PREVENTION OF ALLOGENIC BONE MARROW OR HAEMOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANT FAILURE IN PRESENCE OF DONOR-SPECIFIC ANTI-HLA ANTIBODIES IN RECIPIENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to the field of medicine, namely to transplantology, and can be used for the prevention of allogenic bone marrow transplant failure or hematopoietic stem cells in the presence of donor-specific anti-HLA antibodies in the recipient. Method involves a single infusion of an anti-CD20 monoclonal antibody, oral administration of an inosine monophosphate dehydrogenase inhibitor and performing two plasmapheresis in recipients with a blood system disease in the presence of donor-specific antibodies (DSA) with an mean fluorescence intensity (MFI) greater than 5000. Anti-CD20 monoclonal antibody is an antibody that binds to the CD20 receptor on B cells and initiates cell lysis, as a result of which plasma cells are not formed, wherein said infusion is performed 15 days before the introduction of the allogenic bone marrow or HSC to the recipient. Inosine monophosphate dehydrogenase inhibitor is a lymphostatic preparation with a function of inhibiting proliferation of B-lymphocytes and blocking formation of DSA by these

cells, wherein said intake is carried out from 2nd week to transplantation of allogenic bone marrow or hematopoietic stem cells (allo-HSCT) in a continuous mode for up to 3 months after introduction of cells into recipient of allogenic bone marrow or HSC. Plasmapheresis is performed at least 1 volume of circulating blood each, per day and on the day of introduction of allogenic bone marrow or HSC.

EFFECT: use of the invention enables to achieve the elimination or significant reduction of the level of anti-HLA antibodies to permissible values - less than 5000 MFI in the blood serum of the recipient of the HSC by the day of the allogenic bone marrow or HSC transplantation, due to the complex action, manifested by the destruction of the antibody-synthesizing B-cells, inhibition of antibody production by the remaining B-cells, mechanical removal of DSA by plasmapheresis and binding of the DSA by phenotype-matched platelet concentrates, thereby reducing the risk of developing graft failure, allergic reactions, increasing the effectiveness of treatment and reducing the length of

patient's follow-up in a hospital environment.

4 cl, 1 dwg, 1 tbl, 4 ex

R U 2 8 3 3 1 2 6 C 2 9 2 1 2 6

R U 2 8 3 3 1 2 6 C 2

Изобретение относится к трансплантологии, гематологии, иммунологии и может быть использовано с целью профилактики осложнений при выполнении трансплантации аллогенного костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), в частности осложнений, вызванных наличием у реципиента антител к человеческим лейкоцитарным антигенам (HLA), а именно - несостоятельности трансплантата.

Медицинские показания к трансплантации костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), включают обширный перечень заболеваний, включая злокачественные и другие новообразования лимфоидной, кроветворной и родственной им тканей, болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм и др. Многонациональность страны, ограниченное количество доноров, включенных в российский регистр, а так же необходимость проведения трансплантации в ограниченный (короткий) срок приводят к увеличению числа трансплантаций от частично совместимого донора (не менее одного различия по антигенам тканевой совместимости донора и реципиента), в том числе гаплоидентичного донора (совместимость по антигенам тканевой совместимости составляет 50%) (гапло-ТГСК), что, в свою очередь, увеличивает риски несостоятельности трансплантата.

Человеческие лейкоцитарные антигены (HLA) - гликопротеиды, экспрессируемые на поверхности тромбоцитов, макрофагов, лимфоцитов и других клеток. Клиническое значение имеют класса HLA: I и II. Главная функция HLA - презентация антигенных пептидов Т-лимфоцитам. Все ядродержащие клетки организма экспрессируют HLA-антигены I класса (локусы A, B, C). Иммунокомпетентные клетки экспрессируют HLA-антигены II класса. При нормальном функционировании организма Т-лимфоциты распознают молекулы HLA собственных клеток и не запускают иммунный ответ против них. В норме при попадании в организм «чужеродного агента», запускается процесс образования антител, которые атакуют «чужеродный агент», что приводит к разрушению клеток, отличных от хозяйского генотипа.

Анти-HLA антитела (антитела к антигенам тканевой совместимости донора и реципиента) могут образовываться в организме пациента (реципиента) в результате трансфузий (переливания) донорской крови и (или) ее компонентов, беременностей, предыдущих трансплантаций (в том числе предшествующих трансплантаций костного мозга), в ответ на попадание в организм «чужеродного агента». Образованные антитела представляют собой иммуноглобулины класса G (IgG), которые вырабатываются В-лимфоцитами и при контакте с антигеном (например, донорские лимфоциты в эритроцитарной взвеси) способствуют гибели клетки, несущей данный антиген, что называется иммунным ответом. В норме на развитие иммунного ответа в организме требуется от нескольких дней до двух недель. Наличие анти-HLA-антител особенно нежелательно, когда клетки, несущие чужеродные HLA, вводят целенаправленно, например, при трансплантации аллогенного костного мозга или аллогенных ГСК, особенно от частично-совместимых доноров. Введение «чужеродных» HLA может привести к тому, что организм будет вырабатывать антитела против конкретного HLA-антигена и специфически связываться с ним. При совпадении с фенотипом донора антитела называют донор-специфичными (ДСА). Таким образом, ДСА «атакуют» клетки трансплантата, вызывая их гибель. Наличие анти-HLA антител у пациента (реципиента) аллогенного костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток крови может привести к развитию жизнеугрожающего осложнения - несостоятельности трансплантата, которое в десятки раз увеличивает риск летального исхода вследствие сопутствующих ему инфекционных и геморрагических осложнений, а также увеличивает длительность пребывания пациента в стационаре и, соответственно, увеличивает

стоимость лечения [1-3].

Наличие у реципиента анти-HLA-антител не является противопоказанием к выполнению трансплантации аллогенного костного мозга или ГСК, однако увеличивает риски несостоятельности трансплантата более чем в 7 раз (без ДСА 2-10%, с ДСА 27-75%). Скрининг пациентов, которым планируется выполнение трансплантации аллогенного костного мозга или ГСК от частично-совместимых доноров, является важным диагностическим методом, позволяющим определить риски развития несостоятельности трансплантата. Анализ анти-HLA антител проводится в сыворотке крови реципиента. В практической медицине себя зарекомендовала виртуальная перекрестная проба методом твердофазного иммуноферментного анализа, проводимая с использованием проточного цитофлуориметра. «Положительным» анализ на ДСА считается при средней интенсивности флюоресценции (MFI) более 750.

На наличие анти-HLA-антител не влияет предтрансплантационная подготовка, включая химиотерапию, в том числе высокодозную, проводимую перед трансплантацией костного мозга или ГСК и проводимая в посттрансплантационном периоде иммуносупрессивная терапия, в связи с чем обсуждаются различные протоколы воздействия на ДСА, применяемые параллельно стандартным схемам предтрансплантационного кондиционирования. Наилучшим вариантом является поиск альтернативного донора, к HLA которого не будет выявлено антител у пациента (реципиента). Однако, учитывая сложность подбора совместимого донора (прежде всего из-за ограниченного количества родственных доноров и недостаточного количества доноров, включенных в Федеральный регистр доноров костного мозга и ГСК, донорского костного мозга и ГСК, реципиентов костного мозга и ГСК (далее - российский регистр), приходится прибегать к специализированным методам, которые направлены на удаление существующих ДСА.

Десенситизация (десенсибилизация) - метод терапии, предназначенный для элиминации антител к донорским антигенам HLA или снижения уровня антител до уровня, позволяющего провести успешную трансплантацию. Однако проведение десенситизации, по некоторым данным, не влияет на приживление трансплантата при MFI менее 5000. Значение MFI более 5000 является неблагоприятным фактором и требует поиска альтернативного донора или обязательного проведения десенситизации [2]. Трансплантация аллогенных ГСК является способом лечения злокачественных и незлокачественных заболеваний системы крови. Увеличение числа трансплантаций от гаплоидентичных доноров в свою очередь, увеличивает риски несостоятельности трансплантата. Применяемые в настоящее время способы воздействия на ДСА такие как: внутривенное введение высоких доз иммуноглобулина, монотерапия ритуксимабом, применение методов экстракорпоральной гемокоррекции - не имеют достаточной эффективности в удалении и прекращении выработки антител или направлены только на механическое удаление или связывание уже выработанных антител, или прекращение выработки без воздействия на циркулирующие ДСА. Таким образом, существует потребность в эффективном способе снижения (вплоть до полной элиминации) уровня анти-HLA антител, который позволит увеличивать вероятность успешной трансплантации у пациентов (реципиентов), имеющих ДСА.

В настоящее время для удаления ДСА применяются сорбционные методы - PROSORBA (Cypress Bioscience, Сан-Диего, Калифорния) и его производное - IMMUNOSORBA (Fresenius Medical Care, Waltham, MA), использующие протеин А для связывания широкого спектра антител [3]. Плазма фильтруется через устройство IMMUNOSORBA, чтобы удалить большую часть антител IgG из сыворотки. Однако

IgG, IgM и другие подтипы не удаляются. Сорбционные методы эффективно снижают уровень ДСА, однако эффект от процедуры кратковременный (уровень ДСА возвращается к прежнему уровню после прекращения сеансов через 2-3 дня). Также к недостаткам данного метода относятся высокая стоимость и ограниченная доступность в Российской Федерации, высокий риск осложнений, ассоциированных с процедурой (риск кровотечений, связанный с проводимой гепаринотерапией и наличие тромбцитопении у пациентов (реципиентов).

Другим решением, основанным на удалении циркулирующих антител, является плазмаферез (ПФ) с замещением свежзамороженной плазмы или альбумином [4]. ПФ эффективен в отношении удаления IgM и IgG, находящихся в кровеносном русле. Однако снижение уровня ДСА имеет кратковременный и недостаточный эффект и в отсутствие других методов иммуносупрессии уровень ДСА возвращается к исходному уровню на 2-5 дни после проведения ПФ. Использование ПФ для десенсибилизации у пациентов с алло-ТГСК было впервые описано Varge et al [5]. Однако использование только ПФ в этом исследовании не было эффективным, т.к. не удалось предотвратить развитие несостоятельности трансплантата, вероятно, из-за быстрого восстановления исходного уровня антител.

S. Yoshihara и соавт. применяли трансфузию (переливание) концентрата тромбоцитов, совпадающих по генотипу с ДСА, циркулирующими у реципиента. Это является доступным и эффективным методом связывания антител. Однако основным ограничением данного способа является отсутствие на тромбоцитах HLA II класса, что приводит к невозможности их применения у реципиентов с ДСА ко II классу HLA [6]. Также недостатком данного метода является воздействие только на одно звено иммунного ответа (уже выработанные и циркулирующие в кровотоке ДСА), не влияя на функциональную активность В- лимфоцитов и продолжающуюся выработку антител [7].

На том же принципе снижения уровня ДСА основано применение внутривенного иммуноглобулина (ВВИГ). Способ основан на связывании циркулирующих антител и, тем самым, их нейтрализации. Ограничения данного способа характеризуются высокой дозой (2 г/кг) данного препарата, которая в ряде случаев может приводить к почечному повреждению из-за большого размера молекул иммуноглобулина, а также возможностью развития аллергических реакций на белки плазмы. Увеличивается стоимость лечения, в связи с необходимостью введения высоких доз иммуноглобулина. При этом элиминируются только уже существующие антитела, не предотвращая их дальнейшей выработки В-клетками.

Ciurea и соавт. применяли монотерапию анти-CD20 антителом - ритуксимабом - у пациентов с высоким уровнем ДСА. У 2 пациентов удалось достичь успешного приживления трансплантата [8]. Монотерапия ритуксимабом имеет существенный недостаток в виде отсутствия воздействия на уже выработанные и находящиеся в плазме антитела. Таким образом, без воздействия на них уровень антител существенно не снижается, за счет существующих антител.

Все описанные выше способы элиминации ДСА имеют существенные недостатки, а именно - ограниченную направленность на одно из звеньев иммунного ответа: или прекращение выработки антител, или удаление уже существующих ДСА. Так, применяемые способы имели недостаточную эффективность в снижении уровня ДСА и профилактике развития несостоятельности трансплантата.

Существует протокол группы Johns Hopkins, который был разработан для десенсибилизации реципиентов солидных органов (89 трансплантаций аллогенной почки),

который также был опробован на 14 пациентах (реципиентах) аллогенного костного мозга (среди них - 13 гапло-ТГСК). Схема десенсибилизации состояла из ПФ с замещением свежзамороженной плазмой через день с последующим введением ВВИГ (100 мг/кг), такролимуса (1 мг/сут) и микофенолата мофетила (1 г два раза в день), начиная с 1-2 недель до начала лечения. Уровни ДСА контролировались во время десенситизации и за день до введения ГСК. Для пациентов, у которых наблюдалось повышение уровня ДСА за день до проведения трансплантации (в день -1), проводилось повторное введение ВВИГ и ПФ в последующие два дня после введения ГСК. У 11 пациентов ДСА после проведенного курса не определялись, 3 остальных снизили уровень ДСА ниже порогового значения. Все 14 пациентов достигли приживления трансплантата к дню +60 [9]. В данной схеме десенситизации воздействие в основном идет на антитела, циркулирующие в сыворотке крови, без воздействия на клетки, которые вырабатывают антитела (В-лимфоциты). Недостатком данного метода является высокая иммунная нагрузка за счет введения иммуноглобулина, и высокий риск аллергических реакций. Также раннее проведение ПФ приводит к восстановлению уровня ДСА и сохранению рисков развития несостоятельности трансплантата.

В основу нашего изобретения положена техническая задача разработать эффективный способ десенситизации для профилактики несостоятельности трансплантата аллогенного костного мозга или ГСК с учетом минимальной токсичности проводимого протокола, доступности проводимых методов, приемлемой стоимости проводимой терапии.

Технический результат заключается в элиминации или значительном снижении уровня анти-НLA-антител до допустимых значений (менее 5000 MFI) в сыворотке крови пациента (реципиента) ГСК к дню трансплантации аллогенного костного мозга или ГСК (день 0) благодаря комплексному решению за счет разрушения синтезирующих их В-клеток, торможения выработки антител оставшимися В-клетками, механического удаления ДСА методом ПФ и связывания ДСА подобранными по фенотипу концентратами тромбоцитов, тем самым снижая риск развития несостоятельности трансплантата, аллергических реакций, повышая эффективность лечения и уменьшая продолжительность наблюдения пациента в условиях стационара.

Дополнительный технический результат разработанного способа заключается в сокращении сроков приживления трансплантата.

Сущность способа заключается в профилактике развития несостоятельности трансплантата у пациентов (реципиентов) аллогенного костного мозга и ГСК, имеющих высокий титр ДСА, включающую применение анти-CD20 моноклонального антитела, однократно за 15 дней до введения костного мозга или ГСК (день -15), а также прием лимфостатического препарата (ингибитора инозинмонофосфатдегидрогеназы) в период со 2 недели до трансплантации костного мозга или ГСК и до 90 дня после алло-ТГСК в дозе 30 мг/кг (не менее 2000 мг/сут, не более 3000 мг/сут), выполнение двух последовательных ПФ объемом не менее 1 объема циркулирующей крови каждый - за день и в день введения костного мозга или ГСК. Этот же способ может применяться в вариации, где у пациента имеются ДСА к НLA I класса, что позволяет провести трехкратную трансфузию (переливание) концентрата тромбоцитов.

Протокол десенситизации может быть применен при трансплантации аллогенного костного мозга или ГСК частично-совместимого донора (неродственного частично совместимого или родственного гаплоидентичного донора) при наличии высокого уровня ДСА. Все пациенты (реципиенты) ГСК, полученных от частично-совместимых доноров, в предтрансплантационном периоде должны быть обследованы на наличие ДСА.

Анти-CD20 моноклональное антитело связывается с CD20 рецептором на В-клетках и инициирует лизис здоровых клеток реципиента, вследствие чего не образуются плазматические клетки, продуцирующие антитела, прерывая процесс антителообразования, продуцирующих ДСА, блокируя путь антителообразования до 3 месяцев после введения.

Прием внутрь лимфостатического препарата - ингибитора инозинмонофосфатдегидрогеназы, обуславливает воздействие на оставшиеся в кровеносном русле В-лимфоциты, подавляя их пролиферацию и блокируя выработку ДСА. Применение ингибитора инозинмонофосфатдегидрогеназы основано на его цитостатическом влиянии на В-лимфоциты и подавлении образования ДСА данными клетками в ответ на аллоспецифическую и митогенную стимуляции на протяжении всего периода предтрансплантационного кондиционирования и в раннем посттрансплантационном периоде.

Выполнение ПФ обеспечивает механическое удаление оставшихся в кровотоке ДСА и подготовку пациента (реципиента) к введению костного мозга или ГСК. Раннее применение ПФ приводит к восстановлению уровня антител ко дню 0, что повышает риск связывания ДСА с клетками трансплантата, тем самым увеличивая риск развития несостоятельности трансплантата. Двукратное применение обеспечивает наилучшую подготовку реципиента к введению костного мозга или ГСК, с минимальным риском развития осложнений и аллергических реакций.

Трансфузия концентрата тромбоцитов, подобранного с учетом наличия у реципиента антител к тромбоцитам (анти-HLA I класса) по HLA-генотипу, позволяет адсорбировать на их поверхности, циркулирующие в плазме пациента (реципиента), ДСА.

Разработанный способ позволяет эффективно снизить уровень ДСА в кровотоке перед введением костного мозга или ГСК, предотвращая их выработку путем воздействия на В-лимфоциты (снижая общее количество В-клеток и блокируя их функцию), а также удаляя антитела, находящиеся в кровотоке.

Сущность предлагаемого изобретения пояснена на чертеже. Схема профилактики развития несостоятельности трансплантата у реципиентов с преобладающими донор-специфичными анти-HLA-антителами

Сущность изобретения пояснена примерами осуществления и использования, которые не ограничивают объем правовой охраны.

Пример 1.

Способ осуществляется следующим образом.

Пациента (реципиента) госпитализируют в стационар для проведения трансплантации костного мозга или ГСК. При трансплантации от частично совместимого донора проводится скрининговое исследование на наличие ДСА. При обнаружении у реципиента положительных ДСА с MFI превышающей 5000, проводят протокол десенситизации.

Пациент (реципиент) под наблюдением лечащего врача на 15 сутки до планируемой трансплантации костного мозга или ГСК получает инфузию анти-CD20 моноклонального антитела, однократно. Назначают перорально лимфостатический препарат - ингибитор инозинмонофосфатдегидрогеназы, начиная со 2-й недели до алло-ТГСК (за 14 дней до введения КМ или ГСК), непрерывно до 3 месяцев после алло-ТГСК в дозе 30 мг/кг/сут, не менее 2 г/сут, и не более 3 г/сут. Проводят две процедуры ПФ последовательно (объемом не менее 1 объема циркулирующей крови каждый) за сутки до алло-ТГСК и в день непосредственного введения костного мозга или ГСК, суммарно в объеме, составляющем 2 объема циркулирующей крови. В случае, если у пациента имеются ДСА к HLA I класса, проводят трехкратную трансфузию (переливание)

концентрата тромбоцитов за три последовательных дня, причем третья трансфузия проводится в день непосредственно перед введением костного мозга или ГСК.

Предтрансплантационную подготовку, включая химиотерапию, в том числе высокодозную, перед процедурой трансплантации костного мозга и ГСК, (кондиционирование) проводят согласно протоколу, принятому в трансплантационном центре в стандартные сроки (ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России применяет 6-ти дневное кондиционирование, без введения химиопрепаратов за сутки до выполнения алло-ТГСК), вне зависимости от протокола десенситизации.

#### Пример 2.

Данный метод десенситизации был разработан в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России и применен в отделении интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга на 5 пациентах. Всем пациентам планировалось выполнение трансплантации аллогенных ГСК от родственного гаплоидентичного донора.

Характеристики пациентов с донор-специфичными антителами, которым выполнялась десенситизация согласно протоколу						
Пациент	Диагноз	Вид ТКМ	Уровень ДСА инициальный (максимальный уровень при нескольких аллелях) - I класса и II класса	Уровень ДСА после десенситизации (день 0, по тому же аллелю)	Приживление	Трансплантационный статус +28 день
К. Т.	ОМЛ	гапло-ТГСК	I - 20822 II - 0	I - 563 II - 0	Да (+19 день)	Донорское кроветворение
К. Л.	ОМЛ	гапло-ТГСК	I - 9665 II - 0	I - 1895 II - 0	Да (+26 день)	Донорское кроветворение
Г. А.	МДС	гапло-ТГСК	I - 13890 II - 5364	I - 440 II - 0	Да (+27 день)	Донорское кроветворение
Ц. Т.	МДС	гапло-ТГСК	I - 20674 II - 7682	I - 8499 II - 2456	Нет	Первичная несостоятельность трансплантата
С. Е.	ОМЛ	гапло-ТГСК	I - 17817 II - 0	I - 2010 II - 0	Да (+20 день)	Донорское кроветворение

При обследовании у данных пациентов были выявлены ДСА к HLA I класса с MFI 13890 (9665-20822). У двоих реципиентов так же имелись антитела ко II классу HLA со средней величиной флуоресценции 7648 (2856-12864). Альтернативных доноров в российском и международном регистрах не было найдено. Учитывая высокий уровень ДСА, в предтрансплантационном периоде пациентам проводилась десенситизация по методу, описанному выше. Ранний посттрансплантационный период протекал с инфекционными осложнениями в виде фебрильной нейтропении, мукозита 1-2 ст. Приживление трансплантата достигнуто у четверых реципиентов, медиана 20 дней (19-26). У одного пациента должного снижения уровня ДСА данным методом достичь не удалось, вследствие высокой иммунизации перед алло-ТГСК из-за длительного трансфузионного анамнеза, что привело к первичной несостоятельности трансплантата. В последующем ему была выполнена трансплантация от альтернативного гаплоидентичного донора, с повторным применением описанного метода десенситизации, с успешным приживлением на +24 день после алло-ТГСК. За сутки до введения стволовых клеток у 4 пациентов было значительное снижение (MFI <2000) или полная редукция анти-HLA-антител ко II классу, все они имели хорошую функцию трансплантата.

#### Пример 3.

##### Клинический пример.

Пациент К. 28 лет, с диагнозом острый миелоидный лейкоз. Длительность заболевания

6 месяцев. В анамнезе множественные трансфузии компонентов крови, без посттрансфузионных реакций и осложнений. Беременности 3: 1 замершая, 2 самостоятельных родов. В рамках протокола терапии ОМЛ, с учетом наличия показаний, в качестве консолидации решено провести алло-ТГСК. Полностью совместимые родственные доноры и неродственные доноры в российском и международном регистрах не найдены, в качестве «оптимального» донора выбрана сестра, являющаяся гаплоидентичной. В результате медицинского обследования пациента (реципиента) перед алло-ТГСК обнаружен высокий титр ДСА. Обнаружены ДСА к I классу HLA, средняя величина флуоресценции которых была в диапазоне от 3256 до 20822. Учитывая наличие ДСА к I классу, был проведен протокол десенситизации, согласно схеме без подбора тромбоцитов специфичных по HLA.

Приживление трансплантата констатировано на +19 день после алло-ТГСК, на +28 день подтвержден полный донорский химеризм.

Пример 4.

Клинический пример.

Пациент Г., 56 лет, миелодиспластический синдром. Анамнез заболевания более года, в течение которого проводились множественные трансфузии донорской крови и ее компонентов. На протяжении 2,5 месяцев увеличилась потребность в заместительной терапии, снизился прирост показателей тромбоцитов, гемоглобина после трансфузий. В качестве следующей линии терапии рекомендовано проведение трансплантации аллогенного костного мозга или ГСК. Сиблинги - 4, все гаплоидентичны. Беременности - 4, роды - 4, самостоятельные, дети гаплоидентичны. По результатам медицинского обследования пациента (реципиента) перед алло-ТГСК выявлены множественные анти-HLA-антитела. Присутствуют ДСА ко всем потенциальным донорам. Учитывая отсутствие полностью совместимых доноров, пациенту выполнен протокол десенситизации по схеме.

Из-за наличия ДСА к I классу HLA протокол проводился с трехкратной трансфузией тромбоцитов, подобранных по HLA.

За день до введения ГСК отмечена полная элиминация ДСА ко II классу и значительное (более чем в 30 раз) снижение антител к I классу. Приживление трансплантата констатировано на +27 день, 100% донорское кроветворение.

Таким образом, предложенный способ за счет мультисайтного воздействия на все компоненты иммунной системы позволил увеличить процент приживлений трансплантата без углубления иммунодефицита и увеличения числа инфекционных осложнений до 60%, в то время как обычно для этой категории пациентов процент приживлений составляет лишь 25% [10]. Также данный метод не создает высокого риска аллергических реакций. Разработанный нами метод за счет комплексного воздействия устраняет как источники образования антител, так и сами ДСА.

Список источников литературы, использованных при составлении описания изобретения «Способ профилактики несостоятельности трансплантата аллогенного костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток при наличии у реципиента донор-специфичных анти-HLA антител»:

1. Alcazer V, Peffault de Latour R, Ader F, Labussière-Wallet H. Non-prise de greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques: définition et facteurs de risque identifiés. Bull Cancer. 2019;106(6):574-83.

2. Bramanti S, Calafiore V, Longhi E, Mariotti J, Crespiatico L, Sarina B, et al. Donor-Specific Anti-HLA Antibodies in Haploidentical Stem Cell Transplantation with Post-Transplantation Cyclophosphamide: Risk of Graft Failure, Poor Graft Function, and Impact on Outcomes. Biol

Blood Marrow Transplant. 2019;25(7):1395-406.

3. Burke GW, Colona J, Noto T, Reik R, Ciancio G, Roth D, et al. Removal of preformed cytotoxic antibody using PROSORBA (Staph Protein-A-Silica) column without immunosuppression. Transplant Proc [Internet]. 1997 [cited 2021 Nov 19];29(4):2249-51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9193611/>

4. Cutler C, Kim HT, Sun L, Sese D, Glotzbecker B, Armand P, et al. Donor-specific anti-HLA antibodies predict outcome in double umbilical cord blood transplantation. Blood. 2011;118(25):6691-7.

5. Barge AJ, Johnson G, Witherspoon R, Torok-Storb B. Antibody-mediated marrow failure after allogeneic bone marrow transplantation. Blood 1989; 74(5):1477-1480. e-pub ahead of print 1989/10/01.

6. Yamashita T, Ikegame K, Kojima H, Tanaka H, Kaida K, Inoue T, et al. Effective desensitization of donor-specific HLA antibodies using platelet transfusion bearing targeted HLA in a case of HLA-mismatched allogeneic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2017;52(5):794-6.

7. Yoshihara S, Maruya E, Taniguchi K, Kaida K, Kato R, Inoue T, et al. Risk and prevention of graft failure in patients with preexisting donor-specific HLA antibodies undergoing unmanipulated haploidentical SCT. Bone Marrow Transplant. 2012;47(4):508-15.

8. Ciurea SO, Al Malki MM, Kongtim P, Zou J, Aung FM, Rondon G, et al. Treatment of allosensitized patients receiving allogeneic transplantation. Blood Adv [Internet]. 2021 Oct 26 [cited 2021 Nov 16];5(20):4031-43. Available from: <http://ashpublications.org/bloodadvances/article-pdf/5/20/4031/1829147/advancesadv2021004862.pdf>

9. Leffell MS, Jones RJ, Gladstone DE. Donor HLA-specific Abs: to BMT or not to BMT? Bone Marrow Transplant [Internet]. 2015 Jun 23;50(6):751-8. Available from: <http://www.nature.com/articles/bmt2014331>

10. Kongtim P, Cao K, Ciurea SO. Donor Specific Anti-HLA Antibody and Risk of Graft Failure in Haploidentical Stem Cell Transplantation. Adv Hematol. 2016;2016.

#### (57) Формула изобретения

1. Способ профилактики несостоятельности трансплантата аллогенного костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) у реципиентов с заболеванием системы крови при наличии донор-специфичных антител (ДСА) со средней интенсивностью флюоресценции (MFI), превышающей 5000, включающий:

- однократную инфузию анти-CD20 моноклонального антитела для блокировки антителообразования, причем указанное анти-CD20 моноклональное антитело представляет собой антитело, которое связывается с CD20 рецептором на В-клетках и инициирует лизис клеток, вследствие чего не образуются плазматические клетки, при этом указанную инфузию выполняют за 15 дней до введения реципиенту аллогенного костного мозга или ГСК,

- пероральный прием ингибитора инозинмонофосфатдегидрогеназы, представляющего собой лимфостатический препарат с функцией подавления пролиферации В-лимфоцитов и блокирования образования ДСА данными клетками, при этом указанный прием осуществляют со 2-й недели до трансплантации аллогенного костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в непрерывном режиме до 3 месяцев после введения клеток реципиенту аллогенного костного мозга или ГСК,

- выполнение двух плазмаферезов, не менее 1 объема циркулирующей крови каждый, за сутки и в день введения аллогенного костного мозга или ГСК.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что при наличии ДСА к HLA I класса реципиенту дополнительно проводят трансфузию концентрата тромбоцитов один раз в день за три последовательных дня, причем третья трансфузия проводится в день введения аллогенного костного мозга или ГСК.

5 3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что трансфузия концентрата тромбоцитов в день введения аллогенного костного мозга или ГСК предпочтительно проводится непосредственно перед введением аллогенного костного мозга или ГСК.

10 4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что прием ингибитора инозинмонофосфатдегидрогеназы осуществляют в дозе 30 мг/кг, не менее 2000 мг/сут и не более 3000 мг/сут.

15

20

25

30

35

40

45

