

ПОНОМАРЕВ РОДИОН ВИКТОРОВИЧ

Динамика лабораторных показателей, отражающих функциональную активность макрофагальной системы, у пациентов с болезнью Гоше I типа на фоне патогенетической терапии

14.01.21 – гематология и переливание крови

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва, 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор Лукина Елена Алексеевна

Официальные оппоненты:

Сметанина Наталья Сергеевна – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий, заместитель главного врача по лечебно-консультативной работе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Луговская Светлана Алексеевна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры Клинической и лабораторной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Защита диссертации состоится «___» _____ 2020 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д. 208.135.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125167 г. Москва, Новый Зыковский проезд, д.4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте www.blood.ru
Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Сысоева Елена Павловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Болезнь Гоше (БГ) – орфанное заболевание из группы наследственных ферментопатий, развивающееся вследствие дефицита активности кислой β -D-глюкозидазы (глюкоцереброзидазы) - лизосомного фермента, катализирующего гидролизное расщепление глюкозилцерамида на церамид и глюкозу [Zimran и соавт., 2015]. Типичными клиническими проявлениями БГ являются: цитопения, гепато- и спленомегалия и поражение костно-суставной системы.

Современная концепция патогенеза БГ рассматривает накопление нерасщепленного субстрата в цитоплазме макрофагов как основу сложной дисрегуляции функционирования макрофагальной системы, приводящей не только к увеличению абсолютного количества макрофагов в печени, селезенке и костном мозге, но и к развитию состояния хронического воспалительного ответа с продукцией множества цитокинов, хемокинов, стимуляции В- и Т-клеточного звеньев иммунитета, активации системы комплемента, а также нарушению регуляции обмена железа и метаболизма костной ткани [Pandey и соавт., 2018, Young и соавт., 2006, Xu Y.H. и соавт., 2011, Regenboog M. и соавт. 2016].

Лечение БГ заключается в назначении пожизненной заместительной ферментной терапии (ЗФТ), характеризующейся высокой эффективностью [Barton и соавт., 1991]. Оценка эффективности лечения БГ основана на анализе клинических, лабораторных и инструментальных данных, отражающих активность БГ [Biegstraaten и соавт., 2018]. Под активностью БГ понимается общий объем накопленных метаболитов (в первую очередь - глюкоцереброзида) и связанная с ним степень дисфункции макрофагальной системы [Wienreb и соавт., 2016]. На фоне ЗФТ происходит постепенное уменьшение объема метаболитов и восстановление нормального функционирования макрофагов, что имеет следствием полный или частичный регресс цитопений, органомегалии и инфильтрации костного мозга бедренных костей [Beutler, 2014]. Изучение параметров ответа на лечение имеет важное практическое значение: пациенты, достигшие целей лечения БГ, могут переводиться на поддерживающий режим ЗФТ [Ponomarev и соавт, 2019].

Наиболее выраженный эффект ЗФТ регистрируется в первые 4-5 лет, в течение которых около 80% больных достигают целей лечения [Serratrice и соавт., 2016]. Можно предположить, что эти сроки лечения достаточны для расщепления накопленных в течение жизни метаболитов. Цель ЗФТ в дальнейшем заключается в поддержании ранее достигнутого клинического результата, то есть в сохранении баланса между вновь накопленным метаболитом и поступлением экзогенного фермента.

У пациентов, переведенных на поддерживающий режим ЗФТ, проводится регулярный мониторинг активности БГ. При этом, имеется проблема «ригидности» основных параметров контроля. Показано, что даже при отмене ЗФТ, отрицательная динамика показателей активности заболевания у большинства пациентов регистрируется только спустя 6 месяцев перерыва в лечении [Giraldo и соавт., 2011, Goldblatt и соавт., 2011]. Кроме того, оценка активности БГ осложняется факторами, модифицирующими течение болезни. В частности, проведение спленэктомии значительно изменяет фенотип БГ, приводя, с одной стороны, к регрессу цитопении, а с другой – к активному накоплению клеток Гоше в костном мозге трубчатых костей, что обуславливает более тяжелое поражение костно-суставной системы. Параметры контроля за эффективностью ЗФТ у спленэктомированных пациентов ограничены степенью специфической инфильтрации костного мозга и степенью увеличения печени.

В связи с этим, большое значение приобретает проблема недостаточности имеющихся параметров контроля (показателей гемограммы, степени органомегалии и состояния костного мозга) для полноценной и своевременной оценки активности БГ. В течение последних 20 лет активно изучается информативность различных биологических молекул, предоставляющих дополнительную информацию о степени нарушения макрофагальной функции - биомаркеров болезни Гоше.

Несмотря на более чем 20-летнюю историю изучения биомаркеров БГ, до настоящего времени отсутствуют клинические рекомендации по их практическому использованию. Роль биомаркеров в принятии решений о коррекции терапии не определена. Исследование биомаркеров в рамках клинических исследований ограничивается непродолжительными сроками данных исследований, в связи с чем отсутствуют систематизированные данные о динамике данных показателей на фоне длительной терапии.

Данная диссертационная работа посвящена изучению динамики биомаркеров у пациентов с болезнью Гоше на фоне заместительной ферментной терапии.

Цель исследования

Изучение динамики и оценка клинической информативности лабораторных показателей, ассоциированных с функциональной активностью макрофагальной системы, у пациентов с болезнью Гоше I типа в процессе патогенетической терапии.

Задачи исследования

1. Дать краткую характеристику взрослых пациентов с БГ I типа, включенных в Российский регистр БГ.

2. Охарактеризовать профиль лабораторных показателей, отражающих функциональную активность макрофагальной системы, у пациентов с болезнью Гоше I типа до начала патогенетической терапии.
3. Изучить динамику указанных лабораторных показателей у пациентов с болезнью Гоше I типа на различных этапах патогенетической терапии.
4. Провести анализ частоты появления антител к рекомбинантной глюкоцереброзидазе.
5. Оценить клиническую информативность исследованных лабораторных показателей для оценки степени активности болезни Гоше и контроля эффективности патогенетической терапии.

Научная новизна и практическая ценность

Впервые в России создан Регистр пациентов с болезнью Гоше I типа, который включил 320 взрослых пациентов (92 % от общей популяции), что позволило получить достоверную информацию о фенотипической характеристике болезни Гоше и динамике клинических и лабораторных показателей в процессе патогенетической терапии.

Установлена распространенность болезни Гоше в России, которая составила 2,77 случая на 1 миллион человек.

Впервые охарактеризован профиль лабораторных показателей, отражающих активность заболевания, у пациентов с болезнью Гоше до начала и в процессе патогенетической терапии.

Разработана комплексная шкала оценки степени активности болезни Гоше на основе клинических, лабораторных и радиологических параметров. На основе разработанной шкалы проведена оценка эффективности заместительной ферментной терапии у пациентов, длительно получающих патогенетическое лечение.

Оценена частота встречаемости антилекарственных антител у пациентов с болезнью Гоше, длительно получающих заместительную ферментную терапию имиглуцеразой.

Положения, выносимые на защиту

- 1) На основе данных Российского регистра взрослых пациентов с болезнью Гоше I типа установлено, что типичными лабораторными характеристиками заболевания до начала заместительной ферментной терапии являются: 1-3 ростковая цитопения, гиперферритинемия, гипохолестеринемия и поликлональная гипергаммаглобулинемия.
- 2) Под активностью болезни Гоше следует понимать объем накопленных метаболитов и связанную с этим степень дисфункции макрофагальной системы. Клиническая оценка активности данного заболевания основывается на характеристике поражения костей,

гематологических и висцеральных проявлений и может быть представлена в качестве суммы баллов - индекса активности болезни Гоше.

3) На фоне заместительной ферментной терапии наблюдается полный или частичный регресс цитопений, снижение концентрации ферритина и иммуноглобулинов класса А, а также повышение концентрации холестерина и триглицеридов. Данные лабораторные изменения происходят синхронно со снижением индекса активности болезни Гоше, что отражает эффективность лечения.

4) В российской популяции взрослых пациентов с болезнью Гоше, длительно получающих заместительную ферментную терапию имиглюцеразой (медиана – 10,5 лет), антилекарственные антитела выявляются у 6,5 % пациентов. Наличие антител к имиглюцеразе не ассоциируется со снижением эффективности лечения.

Внедрение в практику

Основные положения диссертационной работы внедрены в работу отделения орфанных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава РФ (Генеральный директор – академик РАН, д.м.н., профессор Савченко В.Г.).

Апробация

Основные положения диссертации были представлены в материалах и докладах на:

- 1) IV – V конгрессах гематологов России (Москва, 2018, 2020 гг.)
- 2) конференциях «Полисистемные орфанные заболевания как междисциплинарная проблема» (Москва, 2018, 2019, 2020 гг.)
- 3) международном конгрессе «Генетика XXI века» (Москва, 2019 г.)
- 4) международной конференции «Recent Advances in Rare Diseases» (Богота, 2019 г.)
- 5) ежегодном конгрессе европейского общества гематологов (Стокгольм, 2018 г.)
- 6) симпозиуме «Society for the study of unborn errors of metabolism» (Афины, 2018 г.)
- 7) симпозиуме «Meeting of European working group on Gaucher disease» (Лейден, 2020 г.)

Апробация диссертации состоялась на заседании проблемной комиссии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России «Фундаментальные и клинические исследования в гематологии; проблемы клинической и производственной трансфузиологии», протокол № 7 от 29 июня 2020 года.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ: 7 в отечественной (из них 6 в журналах, одобренных ВАК) и 2 в зарубежной литературе.

Объем и структура работы

Работа изложена на 105 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных результатов, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Библиографический указатель содержит 137 источников литературы. Работа проиллюстрирована 8 таблицами и 21 рисунком.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Общая характеристика больных и алгоритм обследования

Данная работа проведена на основе данных Российского регистра болезни Гоше, который является одноцентровым наблюдательным исследованием (главный куратор - д.м.н., проф. Лукина Е.А) и проводится на базе отделения орфанных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с 2014 года. Сбор данных осуществлялся на постоянной основе, первичной документацией являлись медицинские документы пациентов с болезнью Гоше, находившихся на обследовании и лечении в отделении орфанных заболеваний НМИЦ гематологии с 2005 по 2020 гг. Критериями включения в исследование являлись установленный диагноз болезни Гоше I типа и возраст ≥ 18 лет. На февраль 2020 г. выборка исследования достигла 320 пациентов с болезнью Гоше, что составляет приблизительно 92 % всех взрослых пациентов с болезнью Гоше в России. Группу исследования составили 320 больных, из которых 43 % мужчин и 57 % женщин в возрасте от 18 до 89 лет (медиана возраста 39,5 лет). Обследование пациентов с болезнью Гоше на протяжении 15 лет проводилось по единому алгоритму со средней частотой 1 раз в 1-2 года, который включал:

- 1) физикальное обследование;
- 2) лабораторное обследование, включавшее:
 - а) клинический анализ крови;
 - б) биохимический анализ крови (включая холестерин и триглицериды);
 - в) коагулограмму;
 - г) исследование сывороточных показателей обмена железа (включая ферритин);
 - д) иммунохимическое исследование белков сыворотки крови;
 - е) определение концентрации хемокина CCL18 методом иммуноферментного анализа (с 2017 по 2019 гг.);
 - ж) определение концентрации гликозилсфингозина (Lyso-Gb1) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (сентябрь 2018 - март 2020 гг., лаборатория молекулярной

генетики и клеточной биологии ФГАУ «НЦЗД» МЗ РФ, зав. лабораторией, к.б.н. Савостьянов К.В.);

з) определение наличия антилекарственных антител методом иммуноферментного анализа (январь 2015 – январь 2020 гг., лаборатория иммунохимии ООО «МБЦ Генериум», начальник лаборатории, к.б.н., Лягоскин Иван Владимирович).

3) инструментальное обследование, включавшее:

а) ультразвуковое исследование органов брюшной полости с определением размеров селезенки и печени;

б) рентгенографию бедренных костей (однократно при первом поступлении в отделение, в дальнейшем - по показаниям);

в) магнитно-резонансную томографию бедренных костей, тазобедренных и коленных суставов (с 2009 года – 2020 года).

Схематично дизайн исследования представлен на рисунке №1.

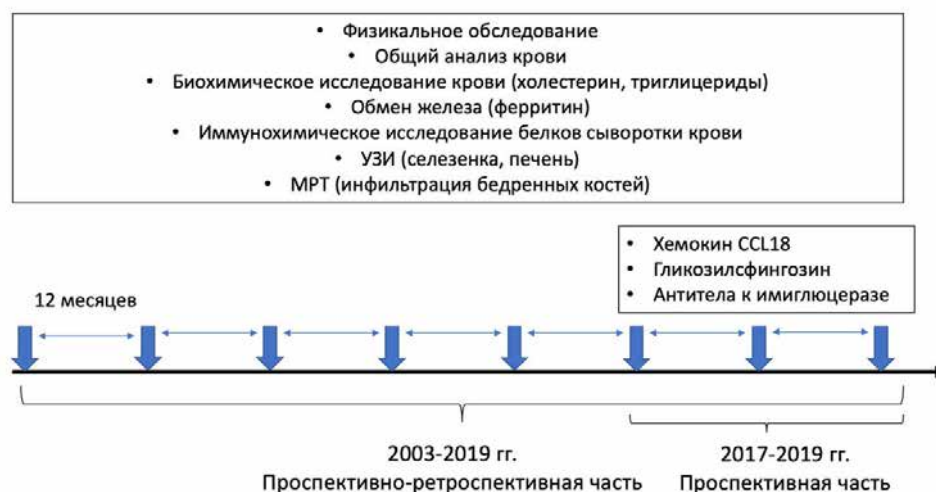


Рис. 1. Дизайн исследования.

2. Определение концентрации хемокина CCL18

Определение концентрации хемокина CCL18 проводилось в централизованной клинико-диагностической лаборатории НМИЦ гематологии, зав. лаб., к.м.н. Двирнык В.Н. Концентрацию CCL18 определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора реагентов RayBio® Human PARC ELISA Kit на иммуноферментном анализаторе «Personal Lab» фирмы Adaltis. В анализе использовались антитела, специфичные к CCL18 человека, нанесенные на 96-луночный планшет.

3. Определение концентрации гликозилсфингозина

Определение концентрации гликозилсфингозина проводилось в лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии ФГАУ «НЦЗД» МЗ РФ, зав. лаб., к.б.н. Савостьянов К.В.

Концентрацию гликозилсфингозина (в виде смеси гексозилсфингозинов) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) на масс-спектрометре Bruker Maxis Impact (Германия) и хроматографе Agilent 1260 (США). В качестве элюента использовали смесь ацетонитрила и воды с добавкой муравьиной кислоты, элюирование проводили в градиентном режиме. Время анализа одной пробы составляло 15 минут. Полученные данные обрабатывались с использованием встроенного пакета программ Bruker Data Analysis 4.1.

4. Определение антилекарственных антител

Определение общих (связывающих) антилекарственных антител (оАЛА) проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа. Для иммобилизации имиглуцеразы использовали 96-луночные планшеты с поверхностью MaxiSorp[®] (Nunc, Германия). Приготовленные разведения испытуемых и контрольных образцов (положительный и негативный контрольные образцы) вносили в планшет с иммобилизованной имиглуцеразой и инкубировали в течение 2 часов при комнатной температуре и 250 об/мин в термощейкере. В качестве положительного контрольного образца использовали поликлональные мышинные антитела к имиглуцеразе (Abcam, кат.№ 88300, Великобритания), внесенные в негативный контрольный образец.

5. Клиническая оценка активности болезни Гоше

В рамках данной диссертации под активностью болезни Гоше понимается объем накопленных метаболитов и связанная с этим степень дисфункции макрофагальной системы. Клиническая оценка активности болезни Гоше основывается на характеристике поражения костей, гематологических и висцеральных проявлений и может быть представлена в качестве суммы баллов - индекса активности болезни Гоше. Для вычисления индекса активности болезни Гоше использовалась разработанная автором шкала активности БГ (основанная на международной шкале DS3), в которой 44% отводится поражению костно-суставной системы, 30 % - гематологическим проявлениям и 25 % - висцеральным проявлениям. Максимальная сумма баллов составляет 19,75 (более высокий балл соответствует большей активности БГ).

Баллы		0	2	3	4	5	7	10	Σ	μ
Костно-суставная система	Асептические некрозы головок бедренных костей	нет						да	10	8,75
	Инфильтрация костного мозга	нет			легкая		умеренная	выраженная	10	
	Оссалгии, артралгии	нет				да			5	
	Костные кризы в течение последних 12-ти месяцев	нет						да	10	
Гематологические проявления	Тромбоцитопения	>100 x 10 ⁹ /л	100-40 x 10 ⁹ /л			40-20 x 10 ⁹ /л	<20 x 10 ⁹ /л		7	6
	Анемия	>120 г/л	80-120 г/л			<80 г/л			5	
Висцеральные проявления	Размеры селезенки (вертикальный)	< 200 мм		200-250 мм		> 250 мм			5	5
	Размеры печени (вертикальный)	<150 мм		150-200 мм		> 200 мм			5	

Максимальный балл – 19,75

Табл. 1. Шкала оценки активности болезни Гоше, разработанная автором.

6. Статистическая обработка результатов.

Для статистической обработки данных использовались методы описательной статистики, частотный анализ, дисперсионный анализ, ROC- анализ, регрессионный анализ повторных измерений, событийный анализ. Расчеты выполнялись при помощи пакета статистических программ SAS 9.4 (Statistical Analysis System) при участии сотрудников информационно-аналитического отдела НМИЦ «Гематологии».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Общая характеристика пациентов из Российского регистра болезни Гоше

Распространенность БГ в России составила 2,77 случая на 1 млн взрослого населения, что существенно ниже распространенности БГ в европейских странах [Giraldo и соавт., 2016, Pinto и соавт., 2016]. Низкая распространенность БГ в России может свидетельствовать о значительной гиподиагностике данного заболевания. При этом, имеется явная тенденция к увеличению числа диагностированных случаев БГ в последние 15 лет, что, вероятно, связано с повышением доступности энзимодиагностики и молекулярно-генетического анализа.

Наибольшая распространенность БГ зарегистрирована в Москве (2,66 на 1 млн человек), Уральском (2,5), Приволжском (2,32) и Центральном федеральном округах (2,23), наименьшая – в Северо-Западном (1,5) и Дальневосточном (1,3) федеральных округах.

В распределении по полу преобладали женщины – 57 %, мужчины составляли 43 %, медиана возраста составила 39 лет. Общая характеристика пациентов представлена в таблице № 2.

У 40 % больных ранее (до поступления под наблюдение НМИЦ гематологии) была проведена спленэктомия. Возраст пациентов при проведении спленэктомии варьировал от 1 года до 54 лет, медиана составляет 13 лет. С момента доступности ЗФТ в России, спленэктомия стала проводиться реже. Статистический анализ показал, что вероятность выполнения спленэктомии с лечебной целью пациентам, которым диагноз БГ был установлен после 2007 г., составляет всего 2 %, что в 15 раз ниже, чем вероятность такой же операции у пациентов, которым диагноз болезни БГ был установлен до 2007 г. (30 %). При этом, вероятность выполнения спленэктомии с диагностической целью уменьшилась только в 1,6 раза (с 38 % до 24 %).

Из 320 пациентов, 242 пациента (75 %) получали ЗФТ препаратами имиглюцеразы и велаглюцеразы-альфа. Медиана длительности ЗФТ составила 10,5 лет (от 1,5 месяцев до 22 лет). У больных, диагностированных до 2007 г., медиана времени, прошедшего с момента диагностики до начала ЗФТ, составила 11,3 года, а для пациентов, диагностированных после 2007 г. – 6 месяцев.

Характеристика	Число больных (%)	Медиана, лет	Интервал, лет
	320 (100%)*		
Пол: мужчины женщины	138 (43 %) 182 (57 %)		
Возраст		39	18-89
Возраст, в котором установлен диагноз БГ		18	0,5 - 79
Спленэктомия	128 (40 %)		
Длительность ЗФТ		10,5	0,2 - 22

* Население России старше 18 лет на 2019 г. – 115 млн человек

Табл. 2. Характеристика пациентов из Российского регистра БГ

2. Характеристика лабораторных показателей, отражающих активность макрофагальной системы, у пациентов с болезнью Гоше I типа до начала патогенетической терапии

Анализ лабораторных показателей, ассоциированных с активностью болезни Гоше, был выполнен на всей доступной выборке Российского регистра болезни Гоше. Исследованы

следующие показатели: концентрация гемоглобина, количество тромбоцитов и лейкоцитов, концентрация холестерина, концентрация ферритина и концентрация иммуноглобулинов классов А, G и М. Основной акцент был сделан на выявлении корреляции между данными показателями и параметрами тяжести БГ, такими как: наличие остеонекрозов, наличие гошером печени и /или селезенки, факт выполнения спленэктомии в анамнезе.

2.1. Показатели гемограммы

Оценка показателей гемограммы до начала ЗФТ выполнена у 133 пациентов. У 41 пациента (31 %) ранее (до поступления под наше наблюдение) была проведена спленэктомия.

Анемия зарегистрирована у 65 % больных, при этом, у подавляющего большинства пациентов (83 %) тяжесть анемии соответствовала легкой степени (Hb 120 – 90 г/л), тяжелая анемия (Hb <70 г/л) выявлена у одного больного. Не было выявлено корреляции между наличием анемии и фактом выполнения спленэктомии, а также наличием остеонекрозов и гошером.

Тромбоцитопения определялась у 99 пациентов (74 %), их них легкой степени - у 27 больных, средней - у 49 больных и тяжелой - у 23 пациентов.

Лейкопения была выявлена у 56 пациентов (43 %), а лейкоцитоз – у 26 больных (20 %).

Наличие тромбоцитопении и лейкопении достоверно чаще наблюдалось у пациентов с интактной селезенкой, в сравнении со спленэктомизированными пациентами. Доля пациентов с тромбоцитопенией среди неспленэктомизированных больных составила 100 %, а среди пациентов, перенесших спленэктомию, – всего 17 %. Лейкопения чаще встречалась у неспленэктомизированных больных в сравнении со спленэктомизированными (62 % против 2,5 %), а лейкоцитоз – напротив, чаще наблюдался у спленэктомизированных больных (59 % против 2,2 %).

Была выявлена достоверная зависимость между снижением количества тромбоцитов и лейкоцитов и наличием гошером печени и селезенки. Подобная зависимость описана впервые.

Сводная информация по основным параметрам гемограммы у пациентов с болезнью Гоше до начала патогенетической терапии представлена в таблице № 3.

Лабораторная характеристика	Число больных, %	Наличие взаимосвязи со следующими параметрами:			
		Пол	Спленэктомия	Остеонекрозы	Гошеромы
Анемия	65 % (87 из 133)	80 % у Ж; 44 % у М ($p < 0.0001$)	-	-	-
Тромбоцитопения	74 % (99 из 130)	-	100 % НСЭ*; 17 % СЭ** ($p < 0.0001$)	-	95 % при наличии гошером; 69 % - при отсутствии ($p < 0.015$)
Лейкопения	43 % (56 из 130)	-	62 % НСЭ*; 2,5 % СЭ** ($p < 0.0001$)	-	65 % при наличии гошером; 38 % - при отсутствии ($p = 0.05$)

* НСЭ – неспленэктомизированные пациенты

** СЭ – спленэктомизированные пациенты

- = Нет значимой взаимосвязи

Табл. 3. Изменение показателей гемограммы у пациентов с болезнью Гоше до начала патогенетической терапии.

2.2. Биохимические показатели

Гипохолестеринемия зарегистрирована у большинства (62 %) впервые диагностированных пациентов с болезнью Гоше. Снижение концентрации холестерина при БГ является следствием гиперметаболического синдрома, развивающегося вторично по отношению к макрофагальной активации. У пациентов, перенесших спленэктомию, гипохолестеринемия выявлялась реже, чем у спленэктомизированных больных (15 % против 74 %). Нормализацию концентрации холестерина после спленэктомии можно объяснить одномоментным удалением большой массы макрофагов и снижением темпа катаболизма липопротеинов.

Повышение концентрации ферритина наблюдалось у 62 % больных. Повышение концентрации сывороточного ферритина при БГ связано с секвестрацией железа в макрофагах и является следствием нескольких процессов: повышения экспрессии гепсидина, снижения экспрессии ферропортина и ускорения эритрофагоцитоза. Клиническое значение гиперферритинемии при БГ не определено. В связи с тем, что ферритин является провоспалительным белком и способен активировать сигнальный путь NF κ B, можно предположить, что высокие значения сывороточного ферритина при БГ могут быть связаны с более тяжелым течением заболевания. Важно отметить, что повышение концентрации ферритина при БГ не сопряжено с лабораторной картиной системной перегрузки железом: показатели трансферрина, ОЖСС и НТЖ, как правило, остаются нормальными.

Сводная информация по изменению исследованных биохимических параметров у пациентов с болезнью Гоше до начала патогенетической терапии представлена в таблице № 4.

Лабораторная характеристика	Число больных, %	Наличие взаимосвязи со следующими параметрами:			
		Пол	Спленэктомия	Остеонекрозы	Гошеромы
Гипохолестеринемия	62 % (37 из 60)	-	15 % у СЭ; 74 % у НСЭ ($p < 0.0001$)	-	-
Повышение ферритина	62 % (79 из 127)	-	-	-	-

- = Нет значимой взаимосвязи

Табл. 4. Изменение параметров биохимического анализа крови у пациентов с болезнью Гоше до начала патогенетической терапии.

2.3. Показатели иммуноглобулинов сыворотки крови

Повышение концентрации иммуноглобулинов класса А зарегистрировали у 43 % пациентов, иммуноглобулинов класса G - у 34 % и иммуноглобулинов класса M – у 55 % пациентов. Повышение концентрации сывороточных иммуноглобулинов при БГ объясняется избыточной стимуляцией В-лимфоцитов цитокинами и хемокинами, секретлируемыми активированными макрофагами.

Выявлена достоверная зависимость концентрации всех исследованных классов иммуноглобулинов от факта проведения спленэктомии, при этом, повышение концентрации иммуноглобулинов классов А и G чаще наблюдалось у спленэктомизированных больных, а повышение концентрации иммуноглобулина M – у неспленэктомизированных. Подобное изменение концентрации иммуноглобулинов вследствие спленэктомии не уникально для болезни Гоше. Ранее, в зарубежных работах, было описано повышение концентрации иммуноглобулинов класса G (у пациентов, перенесших травму селезенки) [Chaimoff и соавт., 1978] и снижение концентрации иммуноглобулинов класса M (у детей с различными гематологическими заболеваниями) [Kogen и соавт., 1984] после спленэктомии.

Снижение IgM после спленэктомии можно объяснить снижением количества IgM-продуцирующих плазмочитов, локализующихся в селезенке. Механизм, лежащий в основе

повышения секреции иммуноглобулинов классов А и G после спленэктомии, остается неясным. В качестве вероятных причин рассматривается общее снижение катаболизма белков, вследствие удаления большой массы активированных макрофагов, и усиление синтеза антител в других лимфоидных органах.

Сводная информация по изменению показателей иммуноглобулинов у пациентов с болезнью Гоше до начала патогенетической терапии представлена в таблице № 5.

Лабораторное изменение	Число больных, %	Наличие взаимосвязи со следующими параметрами:			
		Пол	Спленэктомия	Остеонекрозы	Гошеромы
Повышение IgA	43 % (52 из 122)	-	76 % у СЭ; 27 % НСЭ ($p < 0.0001$)	-	-
Повышение IgG	34 % (42 из 122)	-	58 % у СЭ; 24 % НСЭ ($p < 0.0002$)	-	-
Повышение IgM	55 % (67 из 122)	-	37 % у СЭ; 63 % НСЭ ($p < 0.007$)	-	-

- = Нет значимой взаимосвязи

Табл. 5. Изменение показателей сывороточных иммуноглобулинов у пациентов с болезнью Гоше до начала патогенетической терапии.

3. Клиническая оценка активности БГ до начала и в процессе патогенетической терапии

Из 1190 визитов, внесенных в регистр, около половины (48 %, $n=571$) имели все данные, необходимые для расчета индекса активности БГ, остальные визиты были исключены из данного анализа. Динамика индекса активности болезни Гоше на фоне ЗФТ в дальнейшем сравнивалась с динамикой исследуемых лабораторных показателей.

Для изучения долгосрочного эффекта ЗФТ была выделена отдельная группа пациентов ($n=24$). До начала заместительной ферментной терапии медиана индекса активности БГ составляла 6,5 балла (разброс значений индекса активности БГ 1,5 – 14,75 баллов), после 6-9 лет ЗФТ – 4,5 балла (разброс значений индекса активности БГ 0 – 13,33 баллов). Медиана относительного изменения индекса активности БГ через 6-9 лет ЗФТ равнялась 36 %. После 9 лет ЗФТ показатель индекса активности БГ, как правило, не подвергался значительному изменению (Рис. 2).

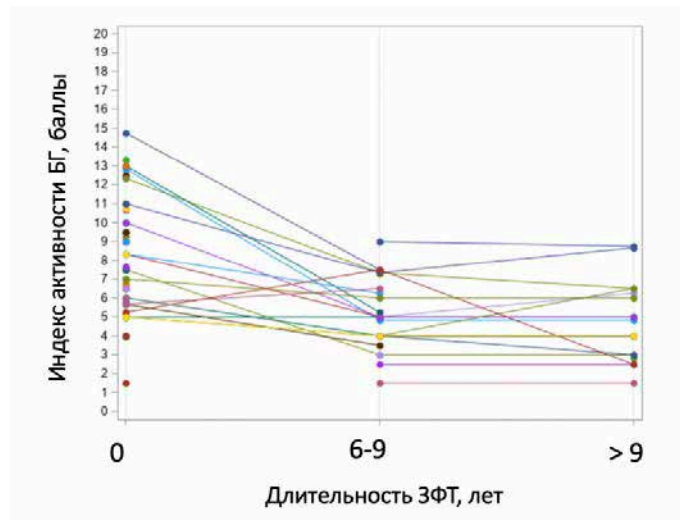


Рис. 2. Изменение индекса активности болезни Гоше на фоне ЗФТ (индивидуальная динамика).

4. Динамика лабораторных показателей, отражающих активность макрофагальной системы, у пациентов с болезнью Гоше I типа на фоне патогенетической терапии

4.1. Динамика концентрации ферритина

На фоне ЗФТ наблюдалось постепенное снижение концентрации ферритина ($-2,96$ нг/мл/мес, $p < 0,0001$), (рис. 3), которое происходило синхронно с уменьшением значения индекса активности БГ (коэффициент частичной корреляции равен $0,71$).

Нормализация концентрации ферритина свидетельствует о восстановлении нормального гомеостаза железа и ассоциируется с регрессом анемии. Таким образом, определение концентрации ферритина при БГ позволяет оценить состояния метаболизма железа и общий ответ на патогенетическую терапию.

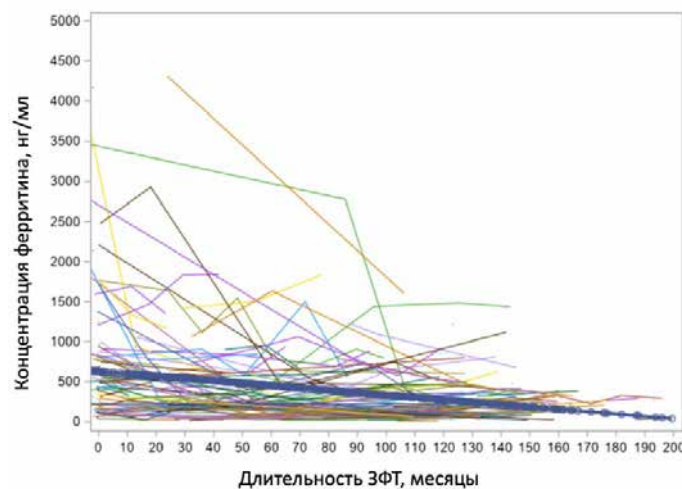


Рис. 3. Изменение концентрации ферритина на фоне патогенетической терапии.

4.2. Динамика концентрации холестерина и триглицеридов

На фоне ЗФТ наблюдалось постепенное повышение концентрации холестерина (+ 0,0045 ммоль/л, $p < 0,0001$) и триглицеридов (+ 0,0018 ммоль/л, $p < 0,04$), которое происходило синхронно с уменьшением значения индекса активности БГ (коэффициент частичной корреляции равен 0,71 для обоих показателей).

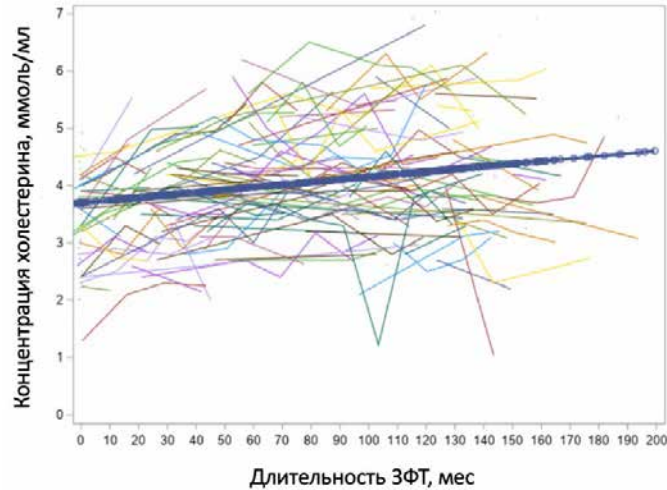


Рис. 4. Изменение концентрации холестерина на фоне патогенетической терапии.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии взаимосвязи между повышением концентрации холестерина и триглицеридов с одной стороны, и снижением макрофагальной активности на фоне ЗФТ и уменьшением степени гиперметаболизма, характерного для БГ, с другой.

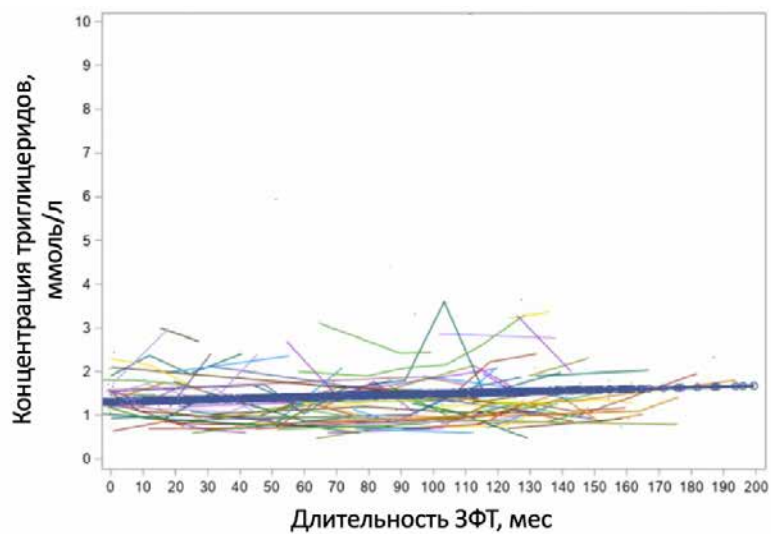


Рис. 5. Изменение концентрации триглицеридов на фоне патогенетической терапии.

Повышение показателей холестерина и триглицеридов имеет как положительное, так и отрицательное значение. С одной стороны, восстановление нормального баланса между анаболизмом и катаболизмом способствует нормализации темпа роста у детей и повышению индекса массы тела у взрослых, что имеет положительное значение. С другой стороны, повышение концентрации холестерина в условиях нарушенного баланса ЛПВП и ЛПНП может служить предпосылкой для развития цереброваскулярных и кардиоваскулярных заболеваний.

4.3. Динамика концентрации иммуноглобулинов

На фоне ЗФТ наблюдалось постепенное снижение концентрации иммуноглобулинов класса А ($-0,47$ Ед/мес, $p < 0,0001$), (рис.6), которое происходило синхронно с уменьшением значения индекса активности БГ (коэффициент частичной корреляции равен $0,71$). Не выявлено достоверной динамики иммуноглобулинов классов G и M. Интересно, что результаты нашего исследования не полностью согласуются с ранее опубликованными работами (в ранее опубликованных статьях описывается снижение концентраций IgA и IgM на фоне ЗФТ, при отсутствии снижения IgG [Wine и соавт., 2007]).

Преимуществом настоящего исследования является больший размер выборки и большая длительность наблюдений, чем в любой из ранее опубликованных работ. Нами впервые проведен анализ связи между динамикой иммуноглобулинов различных классов и изменением индекса активности БГ. Наличие синхронности снижения концентрации иммуноглобулинов класса А со снижением индекса активности БГ позволяет предположить, что IgA является наиболее чувствительным показателем снижения степени активации макрофагальной системы.

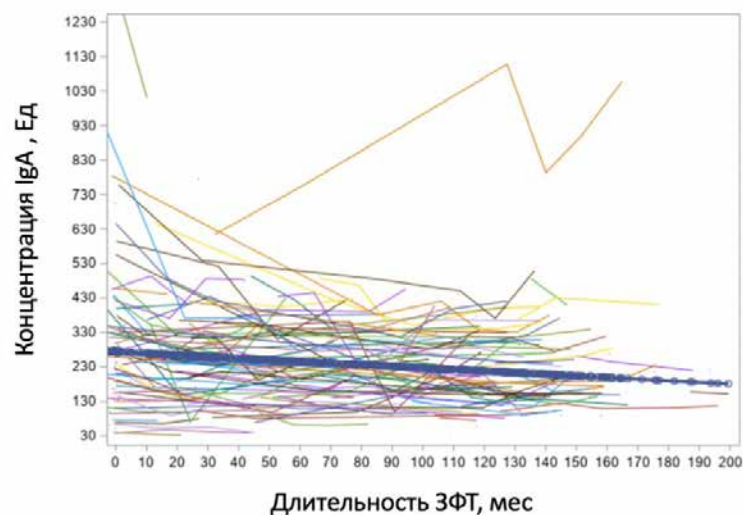


Рис.6 Изменение концентрации иммуноглобулинов класса А на фоне патогенетической терапии.

4. Оценка клинической информативности показателей хемокина CCL18 и гликозилсфингозина

Клиническая оценка информативности специфичных показателей активности БГ: хемокина CCL18 и гликозилсфингозина проведена путем исследования зависимости их концентраций от индекса активности БГ и от продолжительности заместительной ферментной терапии.

Концентрации хемокина CCL18 достоверно отличались в зависимости от степени активности БГ: при легкой степени активности БГ медиана концентрации CCL18 составила 315 нг/мл, при средней степени активности – 661 нг/мл, и при выраженной активности БГ – 1455 нг/мл (рис. 7.). У пациентов, получавших ЗФТ менее 5 лет, медиана концентрации CCL18 была достоверно ниже и равнялась 580 нг/мл, в то время как у пациентов, получавших ЗФТ более 5 лет – 353 нг/мл.

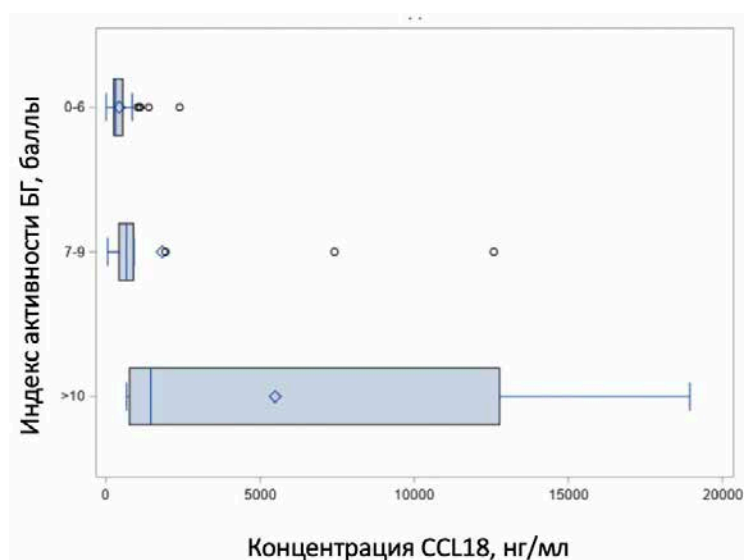


Рис. 7. Взаимосвязь концентрации хемокина CCL18 с индексом активности БГ.

Концентрации гликозилсфингозина достоверно отличались в зависимости от степени активности БГ: при легкой степени активности БГ медиана концентрации гликозилсфингозина составила 132 нг/мл, тогда как при средней и выраженной степени активности – 247 и 238 нг/мл, соответственно (рис.8). У пациентов, получавших ЗФТ менее 5 лет, медиана концентрации гликозилсфингозина составила 212 нг/мл, а у пациентов, получавших ЗФТ более 5 лет – 144 нг/мл, однако данное различие было статистически незначимо.

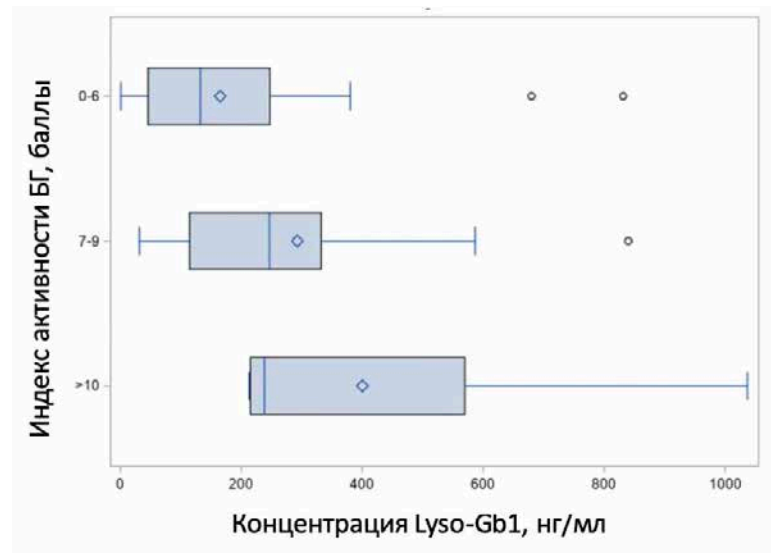


Рис. 8. Взаимосвязь концентрации гликозилсфингозина (Lyso-Gb1) с индексом активности БГ.

В течение последних 10 лет было опубликовано большое количество работ, изучавших клиническую информативность SCL18 и гликозилсфингозина. Ранее было показано, что концентрация данных биомаркеров коррелирует с выраженностью гематологических и висцеральных проявлений БГ. Отличием данной работы является изучение взаимосвязи значения биомаркеров с индексом активности БГ на фоне ЗФТ. Полученные нами результаты свидетельствуют о клинической информативности данных биомаркеров для оценки степени активности БГ и целесообразности изучения данных показателей в динамике.

5. Оценка частоты обнаружения антилекарственных антител к имиглюцеразе

Определение антилекарственных антител к имиглюцеразе проведено однократно у 139 пациентов с БГ на разных сроках ЗФТ. Длительность ЗФТ составила от 0,1 до 16,5 лет (медиана – 8,6 лет). Антитела к имиглюцеразе были выявлены у 9 пациентов (6,5 %), при этом у всех больных антитела не имели нейтрализующей активности.

Обращает на себя внимание неожиданно низкая доля пациентов (6,5 %), имеющих антитела к имиглюцеразе в России, в сравнении с данными международного регистра (15,6 %) [Starzyk и соавт., 2007]. Столь значительное различие в результатах может быть обусловлено широким распространением в России поддерживающего режима ЗФТ.

Показано, что наличие АЛА к имиглюцеразе не ассоциируется со снижением эффективности ЗФТ и развитием реакций гиперчувствительности. Можно сделать вывод, что наличие антител к имиглюцеразе (при условии, что они не демонстрируют нейтрализующей активности) не является терапевтической проблемой и не требует изменения тактики лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основе данных Российского регистра болезни Гоше была установлена распространенность болезни Гоше среди взрослого населения России, проведена фенотипическая характеристика пациентов. Разработана система комплексной оценки активности болезни Гоше на основе шкалы активности БГ, включающей поражения костей, гематологические и висцеральные проявления заболевания. Охарактеризован профиль лабораторных показателей, ассоциированных с активностью БГ, у пациентов до начала ЗФТ: типичными лабораторными характеристиками БГ являются: цитопения, гиперферритинемия, гипохолестеринемия и поликлональная гипергаммаглобулинемия. Проведенный анализ показал, что на фоне заместительной ферментной терапии отмечается снижение концентрации ферритина и иммуноглобулинов класса А, а также повышение концентрации холестерина и триглицеридов. Изменение данных показателей происходит синхронно со снижением индекса активности БГ, что отражает эффективность ЗФТ. Установлено, что показатели хемокина CCL18 и гликозилсфингозина достоверно отличаются в зависимости от активности БГ и от длительности ЗФТ, что позволяет рекомендовать исследование данных показателей в индивидуальной программе комплексной оценки активности болезни Гоше. Вместе с тем, динамика высокоспецифичных биомаркеров болезни Гоше требует дальнейшего изучения с проведением статистического анализа на больших интервалах наблюдения. Установлено, что антитела к имиглуцеразе присутствуют у 6,5 % больных и не имеют нейтрализующей активности. Показано, что наличие АЛА к имиглуцеразе не ассоциировано со снижением эффективности ЗФТ и развитием реакций гиперчувствительности.

ВЫВОДЫ

- 1) Впервые в РФ создан Регистр пациентов с болезнью Гоше, который включил 320 взрослых пациентов (92 % от общей популяции), что позволило получить достоверную информацию о фенотипической характеристике болезни и динамике клинических и лабораторных показателей в процессе патогенетической терапии.
- 2) В соответствии с данными Регистра, распространенность болезни Гоше среди взрослого населения России составляет 2,77 случая на 1 миллион человек. Типичными для «активной» болезни Гоше лабораторными характеристиками являются: 1-3 ростковая цитопения, гиперферритинемия, гипохолестеринемия и поликлональная гипергаммаглобулинемия.

Длительность заместительной ферментной терапии у 50 % российских пациентов превышает 10,5 лет.

3) Установлено, что на фоне заместительной ферментной терапии гиперферритинемия и гипергаммаглобулинемия класса А постепенно регрессируют. Выявлена достоверная прямая связь между показателями сывороточного ферритина и иммуноглобулинов класса А с одной стороны, и индексом активности болезни Гоше, с другой.

4) Показано, что на фоне заместительной ферментной терапии постепенно повышается концентрация холестерина и триглицеридов в сыворотке крови. Выявлена достоверная обратная связь показателей холестерина и триглицеридов с индексом активности болезни Гоше.

5) Установлена достоверная прямая связь между специфическими для болезни Гоше сывороточными биомаркерами - хемокином SCL18 и гликозилсфингозином, с одной стороны, и индексом активности болезни Гоше, с другой.

6) Показано, что в российской популяции пациентов с болезнью Гоше, длительно получающих заместительную ферментную терапию имиглюцеразой, антилекарственные антитела без ингибирующей активности имеются у 6,5 % пациентов. Не выявлено различий в эффективности патогенетической терапии у пациентов с наличием и без наличия антилекарственных антител в сыворотке крови.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1) Под активностью болезни Гоше следует понимать объем накопленных метаболитов и связанную с этим степень дисфункции макрофагальной системы.

2) Для клинической оценки активности болезни Гоше целесообразно использовать шкалу активности БГ, которая базируется на характеристике поражения костей, гематологических и висцеральных проявлений. Наибольший вклад вносит поражение костно-суставной системы, которое может носить необратимый и инвалидизирующий характер, наименьшее – висцеральные проявления в виде гепато- и спленомегалии.

3) Для оценки эффективности ЗФТ необходим мониторинг клинических показателей активности болезни Гоше и неспецифических биомаркеров - сывороточных показателей ферритина, холестерина, триглицеридов и иммуноглобулинов класса А, динамика которых коррелирует с индексом активности болезни Гоше.

4) Показатели высокоспецифичных биомаркеров - хемокина SCL18 и гликозилсфингозина, могут использоваться как дополнительные показатели в индивидуальной программе комплексной оценки активности болезни Гоше, особенно у спленэктомированных пациентов.

- 5) В связи с низкой частотой выявления антилекарственных антител к имиглюцеразе в российской популяции пациентов с болезнью Гоше постоянный мониторинг данного параметра нецелесообразен.
- 6) Регулярное (1 раз в 1-2 года) проведение иммунохимического исследования белков сыворотки крови у пациентов с болезнью Гоше необходимо для своевременной диагностики и мониторинга поли- и моноклональных гаммапатий, характеризующихся повышенным риском трансформации в множественную миелому.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1) Пономарев Р.В., Лукина Е.А. Заместительная ферментная терапия у взрослых пациентов с Болезнью Гоше I типа: история вопроса// Терапевтический архив. – 2019. – Т. 91. - № 7. – С. 127 – 131.
- 2) Пономарев Р.В., Лукина К.А., Сысоева Е.П., Чавынчак Р.Б., Соловьева А.А., Яцык Г.А., Куликов С.М., Лукина Е.А. Поддерживающий режим заместительной ферментной терапии у взрослых пациентов с болезнью Гоше I типа: предварительные результаты // Гематология и трансфузиология. – 2019. – Т. 64. - № 3. – С. 331 – 341.
- 3) Сысоева Е.П., Пономарев Р.В., Лукина К.А., Чавынчак Р.Б., Короткова С.Б., Жилиева М.В., Никитина Е.Г., Маркова О.А., Гапченко Е.В., Шустер А.М., Кудлай Д.А., Лукина Е.А. Оценка эффективности и безопасности биоаналогичного препарата Глуразим (имиглюцераза) у больных болезнью Гоше I типа//Гематология и трансфузиология. – 2020. – Т. 65. - № 1. – С. 8 – 23.
- 4) Пономарев Р.В., Лукина К.А., Сысоева Е.П., Чавынчак Р.Б., Орел Е.Б., Лукина Е.А. Мониторинг волчаночного антикоагулянта у пациентов с болезнью Гоше в процессе заместительной ферментной терапии // Гематология и трансфузиология. – 2020. – Т. 65. - № S1. – С. 203 – 204.
- 5) Соловьева А.А., Яцык Г.А., Пономарев Р.В., Лукина К.А., Сысоева Е.П., Чавынчак Р.Б., Лукина Е.А. Количественная оценка специфической инфильтрации костного мозга при болезни Гоше с помощью метода Диксона // Гематология и трансфузиология. – 2020. – Т. 65. - № S1. – С. 221 – 222.
- 6) Соловьева А.А., Яцык Г.А., Пономарев Р.В., Лукина К.А., Костина И.Э., Мамонов В.Е., Лукина Е.А. Обратимые и необратимые изменения костно-суставной системы при болезни Гоше I типа // Гематология и трансфузиология. – 2019. – Т. 64. - № 3. – С. 331 – 341.
- 7) Соловьева А.А., Яцык Г.А., Пономарев Р.В., Мамонов В.Е., Хоменко В.А., Лукина Е.А. Опыт диагностики и лечения костно-суставного туберкулеза у пациента с болезнью Гоше I типа // Гематология и трансфузиология. – 2018. – Т. 63. - № S1. – С. 182 – 183.

- 8) Kulikov S.M., Ponomarev R.V., Lukina K.A., Sysoeva E.P., Lukina E.A. The Russian National Gaucher registry// HemaSphere. – 2018. – Т. 2. - № S1. – С. 1051.
- 9) Savostyanov K., Pushkov A., Muravova L., Movsisyan G., Rykunova A., Ponomarev R., Lukina K., Lukina E., Namazova-Baranova L. Glucosylfingosyne (Lyso-G11) may be the primary biomarker for screening Gaucher disease in Russian patients // Molecular Genetics and Metabolism. – 2019. – Т. 126. - № 2. – С. 130.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БГ – болезнь Гоше

ЗФТ – заместительная ферментная терапия

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

CCL18 - chemokine (C-C motif) ligand 18

Lyso-Gb1 – гликозилсфингозин

IL – интерлейкин

NFkB - nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

ВЭЖХ-МС - высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием

АЛА – антилекарственные антитела

DS3- disease severity scoring system

ОЖСС – общая железосвязывающая способность сыворотки

НТЖ – насыщение трансферрина железом

Ig – иммуноглобулин

IL – интерлейкин