

СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ К HLA АНТИГЕНАМ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Кузьмич Е.В., Павлова И.Е., Бессмельцев С.С.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт гематологии и
трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»*

Резюме

Введение. Выявление и последующий мониторинг анти-HLA антител могут иметь значение для больных множественной миеломой (ММ) по нескольким причинам. В ранний посттрансплантационный период после проведения аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток больным ММ в ряде случаев возникает потребность в трансфузиях компонентов крови, эффективность которых зависит в том числе от наличия у пациента предрасполагающих анти-HLA антител. Во-вторых, почти у половины пациентов с впервые выявленной ММ диагностируется почечная недостаточность, среди которых 20% страдает от тяжелой ее формы, а 10% пациентов нуждаются в проведении диализа, поэтому некоторые пациенты могут быть кандидатами для трансплантации почки. Целью настоящего исследования являлось определение распространенности анти-HLA антител у больных множественной миеломой.

Материалы и методы. В исследование включены 45 пациентов с диагнозом ММ (21 мужчина и 24 женщины). Медиана возраста пациентов составила 55 лет. Метод исследования – мультиплексный флуоресцентный иммуноанализ с использованием платформы Lumiplex 200. Положительный результат констатировали при MFI более 500 единиц.

Результаты. Антитела к HLA-антигенам были выявлены у 3 пациенток, что составило 12,5% от числа обследованных женщин или 6,7% от общего числа больных. Аллосенсибилизирующие события в анамнезе были установлены только у женщин: 7 человек (29,2%) имели в анамнезе трансфузии; 22 человека (91,7%) – беременности. Миеломная нефропатия была констатирована у 6

человек (13,3% больных), из них у 5 мужчин и 1 женщины. Антитела к HLA-антигенам класса I определены у двух пациенток, к HLA-антигенам класса II – у одной пациентки. Согласно данным анамнеза, сенсibilизирующим событием во всех случаях являлась беременность.

Заключение. Таким образом, частота выявления антител к HLA-антигенам у больных множественной миеломой, составила 6,7%. Значимые различия распространенности антител к HLA-антигенам класса I и класса II не были установлены.

Ключевые слова: аллосенсibilизирующее событие; анти-HLA-антитела; аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; множественная миелома

SENSITIZATION TO HLA ANTIGENS IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA

Kuzmich E.V., Pavlova I.E., Bessmeltsev S.S.

Federal state budgetary institution

*"Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal
Medical and Biological Agency"*

Summary

Introduction. Detection and subsequent monitoring of anti-HLA antibodies may be important for multiple myeloma (MM) patients for several reasons. In the early post-transplantation period after autologous hematopoietic stem cell transplantation, MM patients in some cases require transfusions of blood components, the effectiveness of which depends, among other things, on the presence of pre-existing anti-HLA antibodies in the patient. Secondly, almost half of patients with newly diagnosed MM are diagnosed with renal failure, among which 20% suffer from severe renal failure, and 10% of patients need dialysis, so some patients may be candidates for kidney

transplantation. The aim of the study was to determine the frequency of anti-HLA antibodies in patients with multiple myeloma.

Materials and methods. Forty-five patients diagnosed with MM (21 males and 24 females) were included in the study. The median age of the patients was 55 years. The method of the study was multiplex fluorescent immunoassay using Luminex 200 platform. A positive result was when MFI > 500.

Results. Antibodies to HLA-antigens were detected in 3 patients, which amounted to 12,5% of the examined women or 6,7% of the total number of patients. Allosensitizing events were established only in women: 7 persons (29,2%) had the blood component transfusions; 22 persons (91,7%) had pregnancies. Myeloma nephropathy was found in 6 persons (13,3% of patients), of whom 5 were men and 1 woman. HLA class I antibodies were determined in two patients, HLA class II antibodies – in one patient. According to anamnesis data, the sensitizing event in all cases was pregnancy.

Conclusion. Thus, the frequency of HLA antibodies in patients with multiple myeloma was 6,7%. No significant differences in the frequency of HLA antibodies class I and class II were found.

Key words: allosensitizing event; anti-HLA antibodies; autologous hematopoietic stem cell transplantation; multiple myeloma

Введение

Антитела к антигенам Главного комплекса гистосовместимости (анти-HLA антитела) представляют собой иммуноглобулины класса G, образование которых связано с предшествующей сенсibilизацией несовместимыми HLA-антигенами в результате беременностей, гемотрансфузий, трансплантаций. Помимо перечисленных сенсibilизирующих событий прием некоторых лекарственных препаратов также может стать причиной появления анти-HLA антител. По данным литературы известно, что примерно у трети лиц, имевших в анамнезе какое-либо сенсibilизирующее событие, наблюдается выработка анти-HLA антител [1]. В то же время существуют, так называемые, неизвестные причины HLA-сенсibilизации [2].

Наличие предсуществующих анти-HLA антител в ряде случаев может приводить к полному отсутствию клинического эффекта от переливания тромбоцитов (рефрактерность к трансфузиям тромбоцитов), поэтому пациентам, сенсibilизированным к HLA-антигенам, рекомендуется проводить подбор HLA-совместимых доноров тромбоцитов [3, 4]. В случае необходимости проведения органной трансплантации для реципиента с наличием анти-HLA антител необходим особенно тщательный подбор донора.

Выявление и последующий мониторинг анти-HLA антител могут иметь значение для больных множественной миеломой (ММ) по нескольким причинам. Во-первых, в ранний посттрансплантационный период после проведения аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК), выполняющейся больным множественной миеломой (ММ) в возрасте до 70 лет без сопутствующих заболеваний, в ряде случаев возникает потребность в трансфузиях компонентов крови, эффективность которых зависит от различных факторов, в том числе от наличия у пациента предсуществующих анти-HLA антител [5]. Во-вторых, больные ММ составляют около 2% пациентов, зависимых от диализа, однако имеют более высокий риск смерти по сравнению с общей популяцией диализных больных [6]. Это обстоятельство может быть причиной проведения у ряда тщательно отобранных пациентов трансплантации

почки. Определение уровня анти-HLA антител у реципиентов, готовящихся к трансплантации почки, является обязательным этапом обследования, позволяющим выделить группу пациентов, нуждающихся в более тщательном подборе донорских органов, проведении предоперационной подготовки, включающей методы экстракорпоральной гемокоррекции и медикаментозной терапии. Следует учитывать влияние предрасполагающих HLA-антител на течение посттрансплантационного периода, а также выживаемость органного трансплантата. Выявление донор-специфических анти-HLA антител de novo в послеоперационном периоде может служить одним из признаков развития острого криза отторжения, что дает возможность своевременно начать лечение.

Целью нашего исследования являлось определение распространенности анти-HLA антител у больных множественной миеломой.

Материалы и методы. В исследование включены 45 больных ММ (21 мужчина и 24 женщины, медиана возраста – 55 лет), проходивших лечение в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России в период 2016-2023 гг. Характеристика обследованных пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристика обследованной группы больных ММ

Показатель	Значение
Количество пациентов, из них:	45
Мужчины	21
Женщины	24
Медиана (диапазон) возраста, годы	55 (41 - 75)
Мужчины	52 (41 - 64)
Женщины	59,5 (41 - 75)
Количество пациентов, перенесших гемотрансфузии, из них:	7
Мужчины	0
Женщины	7
Количество пациенток, имевших в анамнезе беременности, из них с числом беременностей:	22
1-2	12

3 и более	10
Количество пациентов с миеломной нефропатией, из них:	6
Мужчины	5
Женщины	1

Медиана времени от постановки диагноза до определения анти-HLA антител составила 10 месяцев, диапазон 3 – 115 месяцев. Большинство больных (42 человека; 93,3%) в этот период получили терапию на основе бортезомиба.

Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) была выполнена 44 (97,8%) пациентам. Перед проведением ауто-ТГСК были использованы следующие режимы кондиционирования: мелфалан в дозе 200 и 140 мг/м² (40 человек; 90,9%), мелфалан в комбинации с карфилзомибом (3 человека; 6,8%) и мелфалан в комбинации с тиотепой (1 человек; 2,3%). Скрининг анти-HLA антител выполнялся до начала режима кондиционирования. Антитела класса IgG к HLA-антигенам класса I и II определялись в образцах сыворотки крови с помощью наборов LIFECODES LifeScreen Deluxe (Immucor Transplant Diagnostics, Inc. USA), мультипараметрического анализатора Luminex 200, (Luminex Corporation, USA) и программного обеспечения MatchIT Antibody (Immucor Transplant Diagnostics, Inc. USA). Метод исследования – мультиплексный флуоресцентный иммуноанализ. Реактивность сыворотки определялась по флуоресцентному сигналу от каждой микросферы после коррекции неспецифического связывания по микросфере с негативным контролем. Результат оценивался как отрицательный при MFI менее 500 единиц. Средняя степень сенсibilизации констатировалась при MFI в пределах 500 – 3000 единиц, согласно подходу Боровковой Н.В. и соавт. [7].

Результаты. Среди пациентов обследованной группы аллосенсибилизирующие события в анамнезе были установлены только у женщин: 7 человек (29,2%) имели в анамнезе трансфузии; 22 человека (91,7%) – беременности. У 12 пациенток имели место 1-2 беременности, у 10 пациенток – 3 и более беременностей. Все женщины, перенесшие трансфузии компонентов крови,

имели от 2 до 5 беременностей. Миеломная нефропатия была констатирована у 6 человек (13,3% больных), из них у 5 мужчин и 1 женщины.

Антитела к HLA-антигенам были выявлены у 3 пациенток, что составило 12,5% от числа обследованных женщин с ММ или 6,7% от общего числа обследованных. Антитела к HLA-антигенам класса I обнаружены у двух пациенток (4,4%), к HLA-антигенам класса II – у одной пациентки (2,2%). Частота выявления антител к HLA-антигенам класса I и II в обследованной когорте не имела значимых различий ($p=0,9$). Согласно данным анамнеза, наличие анти-HLA-антител у наблюдавшихся женщин являлось следствием беременности. Установленная степень сенсибилизации характеризовалась как средняя (MFI в пределах 500 – 3000). Информация о больных, сенсибилизированных к HLA-антигенам, представлена в таблице 2.

Таблица 2.

Характеристика пациентов, сенсибилизированных к HLA-антигенам

	Пациент №1	Пациент №2	Пациент №3
Возраст, годы	64	63	44
Пол	женский	женский	женский
Количество гемотрансфузий перед ауто-ТГСК	0	0	0
Количество беременностей	3	2	4
Антитела к HLA-антигенам класса I	обнаружены MFI 3044	обнаружены MFI 526	не обнаружены
Антитела к HLA-антигенам класса II	не обнаружены	не обнаружены	обнаружены MFI 791
Восстановление тромбоцитов после ауто-ТГСК	Д+12	Д+14	Д+15
Количество трансфузий концентрата тромбоцитов после ауто-ТГСК	3	3	2

Всем пациентам обследованной группы, за исключением 1 человека (женщина, 75 лет), была выполнена ауто-ТГСК. Восстановление числа тромбоцитов после трансплантации у больных с HLA-сенсibilизацией было констатировано на Д+12, Д+14, Д+15 (медиана Д+14). У пациентов без аллосенсибилизации восстановление тромбоцитов наблюдалось в период от Д+7 до Д+17 (медиана Д+14). В ранний посттрансплантационный период одной из трех HLA-сенсibilизированных пациенток были выполнены трансфузии концентрата тромбоцитов (2 дозы) и эритроцитарной взвеси (1 доза), второй пациентке – трансфузии концентрата тромбоцитов (3 дозы), третьей пациентке переливание компонентов крови не потребовалось. Медиана числа трансфузий концентрата тромбоцитов, проведенных пациентам без аллосенсибилизации, составила 2 (диапазон от 0 до 5).

Повторное обследование, выполненное на 21 день после проведения ауто-ТГСК, не выявило изменения уровня анти-HLA антител у сенсibilизированных пациенток.

Обсуждение. Результаты нашего исследования демонстрируют, что среди больных ММ антитела к HLA-антигенам встречаются у женщин и вероятным сенсibilизирующим событием является беременность.

Известно, что частота выявления анти-HLA-антител коррелирует с количеством беременностей [8, 9]. Среди женщин, перенесших одну беременность, анти-HLA антитела выявляются в 11,2% случаев; две беременности – в 22,5%; три беременности – в 27,5%; четыре и более беременностей – в 32,2% случаев [9]. Нам не удалось установить подобную закономерность, что может объясняться длительным периодом времени, прошедшим между беременностью и обследованием (медиана возраста обследованных женщин – 59,5 лет). Согласно исследованиям D.J. Triulzi с соавт., частота выявления анти-HLA антител, с течением времени после беременности уменьшается. В период менее 10 лет после беременности, анти-HLA антитела определяются у 31,3% женщин, через 10-20 лет – у 26,0%, через 20-30 лет – у 22,4%, более чем через 30 лет – у 18,3% женщин. В обследованной нами группе

из 22 пациенток, подтвердивших наличие беременностей в анамнезе, анти-HLA антитела были выявлены у трёх – 13,6% случаев. Информация о наличии беременностей в анамнезе у 2 пациенток, а также о времени последней беременности у всех обследованных нам была недоступна.

Следует подчеркнуть, что анти-HLA антитела определены у пациенток, имевших в анамнезе только беременности, но не трансфузии гемокомпонентов. У больных, имевших в анамнезе и беременности, и гемотрансфузии, антитела к HLA-антигенам выявлены не были. Период времени от проведения трансфузии до определения анти-HLA антител был установлен для пяти из семи пациенток: 9-14 месяцев – 4 человека, 41 год – 1 человек. У 6 (85,7%) пациенток из числа, имевших в анамнезе трансфузии гемокомпонентов, имели место однократные трансфузии: эритроцитарная взвесь – 5 человек, эритроцитарная масса – 1 человек; 1 (14,3%) пациентка получила 2 трансфузии эритроцитарной взвеси с интервалом 16 лет, время от последней трансфузии до обследования составило 9 месяцев. Безусловно уровень экспрессии молекул HLA класса I на поверхности эритроцитов значительно ниже по сравнению с лейкоцитами (100-2000 против $1-2 \times 10^5$ на клетку), однако, развитие сенсибилизации к аллогенным HLA-антигенам в результате трансфузий эритроцитов наблюдалось и описано в ряде исследований. Например, группа G.S. Balasubramaniam показала, что относительный риск развития анти-HLA антител у пациентов после переливания лейкодеплецированных эритроцитов в 4,1 раза выше по сравнению с пациентами, которым трансфузии не проводились [10]. Отсутствие анти-HLA антител у обследованных нами пациентов можно объяснить небольшим числом трансфузий (1-2), проводимой циторедуктивной терапией ММ, а также, возможно, индивидуальными особенностями иммунной системы.

Следует отметить, что 42 (93,3%) обследованных пациента получили терапию на основе бортезомиба в период, предшествовавший определению анти-HLA антител, что может быть причиной невысокой распространенности анти-HLA-антител (6,7%) в обследованной нами когорте. В литературе приводятся сведения о значительно большей частоте анти-HLA-антител у

больных ММ. По сведениям F. Theves с соавт. антитела к HLA антигенам выявлены у 46% пациентов с диагностированной ММ [11]. Авторы также проанализировали зависимость динамики анти-HLA антител от применения различных терапевтических схем. Установлено, что снижение уровня анти-HLA антител или их исчезновение наблюдались как у пациентов, получавших индукционную терапию, включающую алкилирующий агент, иммуномодулятор и ингибитор протеасом, так и терапию с использованием анти-CD38 моноклонального антитела даратумумаба. Применение даратумумаба приводило к снижению уровня анти-HLA в 85% случаев, включая полное исчезновение в 56% случаев. При использовании терапевтических схем с алкилирующим агентом, иммуномодулятором и ингибитором протеасом, соответствующие показатели составили 77% и 45% [11]. Отсутствие значимого влияния предсуществующих анти-HLA-антител на количество трансфузий тромбоцитов у наших пациентов с ММ после ауто-ТГСК может объясняться невысокой степенью аллосенсибилизации у обследованных пациентов, получивших терапию на основе бортезомиба.

Выявленная нами низкая степень сенсибилизации к HLA антигенам у больных ММ после терапии с применением бортезомиба может рассматриваться как благоприятный фактор для пациентов с тяжелой нефропатией. По мнению B.Wirk почечной недостаточностью могут страдать до 50% пациентов с впервые диагностированной ММ, из них у 20% выявляется тяжелая форма и 10% требуется диализ [6]. Среди пациентов, зависящих от диализа больные ММ составляют около 2%, однако имеют в 2,77 раза более высокий риск смерти по сравнению с пациентами с другими нозологиями [6], что может быть основанием для выбора альтернативного варианта заместительной почечной терапии – трансплантации почки для тщательно отобранной группы больных [12]. Наличие у пациента предсуществующих анти-HLA антител в высоком титре ассоциировано со сложностью подбора совместимого донора органного трансплантата и риском гуморального отторжения.

Заключение. Выполненное нами исследование по определению сенсibilизации к HLA-антигенам у больных множественной миеломой позволило установить, что распространенность анти-HLA антител не высока и составляет 6,7%. Наблюдавшиеся значения средней интенсивности флуоресценции (MFI от 526 до 3044) также свидетельствуют о невысоком уровне сенсibilизации, что, вероятно, является следствием применения терапевтических схем, включающих бортезомиб. Выявление анти-HLA антител только у женщин, не имевших в анамнезе трансфузий гемокомпонентов и трансплантаций, позволяет предположить, что наиболее вероятным сенсibilизирующим событием являлась беременность. Согласно результатам нашего исследования, значимые различия распространенности антител к HLA-антигенам класса I и класса II у больных множественной миеломой не наблюдаются.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования

Исследование не имело спонсорской поддержки

Вклад авторов

Концепция и дизайн: все авторы.

Сбор и обработка данных: Кузьмич Е.В., Павлова И.Е.

Анализ и интерпретация данных: все авторы.

Подготовка рукописи: Кузьмич Е.В., Павлова И.Е.

Окончательное одобрение рукописи: Бессмельцев С.С.

Литература

1. Rodey G. HLA beyond tears: Introduction to human histocompatibility. *Colorado: De Novo Inc.*; 2000: 212–214.
2. Lowe D., Briggs D., Daga S. et al. HLA antibodies in an untransfused male possibly generated by exposure to blood from bare knuckle cage fighting. *Tissue Antigens*. 2012; 79(6): 496–497.
3. Cano P., Patel H., Cao K. Anti-HLA-class-I antibodies and platelet transfusion refractoriness. *Human Immunol*. 2013; 74(S1): 169–170.
4. Delaflor-Weiss E., Mintz P.D. The evaluation and management of platelet refractoriness and alloimmunization. *Transfus. Med. Rev*. 2002; 14(2): 180–196.
5. Бессмельцев С.С. Множественная миелома: диагностика и терапия (часть 1). *Вестник гематологии*. 2022; 18(2): 4–26.
6. Wirk B. Renal failure in multiple myeloma: a medical emergency. *Bone Marrow Transplant*. 2011; 46(6): 771–783. <https://doi.org/10.1038/bmt.2011.8>
7. Боровкова Н.В., Пинчук А.В., Шмарина Н.В. и др. Выбор иммуносупрессивной терапии в зависимости от уровня антител к HLA при трансплантации почки. *Трансплантология*. 2018; 10(1): 35–41. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2018-10-1-35-41>
8. Бутина Е.В., Зайцева Г.А. Диагностика иммунологического конфликта при беременности. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2014; 3: 16–19.
9. Triulzi D.J., Kleinman S., Kakaiya R.M. et al. The Effect of Previous Pregnancy and Transfusion on HLA Alloimmunization in Blood Donors: Implications for a Transfusion Related Acute Lung Injury (TRALI) Risk Reduction Strategy. *Transfusion*. 2009; 49(9): 1825–1835. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02206.x>
10. Balasubramaniam G.S., Morris M., Gupta A. et al. Allosensitization rate of male patients awaiting first kidney grafts after leuko-depleted blood transfusion. *Transplantation*. 2012; 93(4): 418–422. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3182419864>

- 11.Theves F., Kheav D., Talbot A. et al. Impact of Daratumumab on Anti-HLA Antibodies Level in Patients with Multiple Myeloma, a Role in Transplantation? *Clinics in Oncology*. 2022; 7: article 1939. Available at: <https://www.clinicsinoncology.com/open-access/impact-of-daratumumab-on-anti-hla-antibodiesnbsplevel-in-patients-9127.pdf>
- 12.Heybeli C., Bentall A.J., Alexander M.P. et al. Kidney transplant outcomes of patients with multiple myeloma. *Kidney International Reports*. 2022; 7(4): 752–762. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2022.01.003>

References:

1. Rodey G. HLA beyond tears: Introduction to human histocompatibility. *Colorado: De Novo Inc.*; 2000: 212–214.
2. Lowe D., Briggs D., Daga S. et al. HLA antibodies in an untransfused male possibly generated by exposure to blood from bare knuckle cage fighting. *Tissue Antigens*. 2012; 79(6): 496–497.
3. Cano P., Patel H., Cao K. Anti-HLA-class-I antibodies and platelet transfusion refractoriness. *Human Immunol*. 2013; 74(S1): 169–170.
4. Delaflor-Weiss E., Mintz P.D. The evaluation and management of platelet refractoriness and alloimmunization. *Transfus. Med. Rev*. 2002; 14(2): 180–196.
5. Bessmeltsev S.S. Mnozhestvennaya mieloma: diagnostika i terapiya (chast' 1). *Vestnik gematologii*. 2022; 18(2): 4–26.
6. Wirk B. Renal failure in multiple myeloma: a medical emergency. *Bone Marrow Transplant*. 2011; 46(6): 771–783. <https://doi.org/10.1038/bmt.2011.8>
7. Borovkova N.V., Pinchuk A.V., SHmarina N.V. i dr. Vybory immunosuppressivnoj terapii v zavisimosti ot urovnya antitel k HLA pri transplantacii pochki. *Transplantologiya*. 2018; 10(1): 35–41. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2018-10-1-35-41>
8. Butina E.V., Zajceva G.A. Diagnostika immunologicheskogo konflikta pri beremennosti. *Rossijskij vestnik akushera-ginekologa*. 2014; 3: 16–19.

9. Triulzi D.J., Kleinman S., Kakaiya R.M. et al. The Effect of Previous Pregnancy and Transfusion on HLA Alloimmunization in Blood Donors: Implications for a Transfusion Related Acute Lung Injury (TRALI) Risk Reduction Strategy. *Transfusion*. 2009; 49(9): 1825–1835. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02206.x>
10. Balasubramaniam G.S., Morris M., Gupta A. et al. Allosensitization rate of male patients awaiting first kidney grafts after leuko-depleted blood transfusion. *Transplantation*. 2012; 93(4): 418–422. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3182419864>
11. Theves F., Kheav D., Talbot A. et al. Impact of Daratumumab on Anti-HLA Antibodies Level in Patients with Multiple Myeloma, a Role in Transplantation? *Clinics in Oncology*. 2022; 7: article 1939. Available at: <https://www.clinicsinoncology.com/open-access/impact-of-daratumumab-on-anti-hla-antibodiesnbsplevel-in-patients-9127.pdf>
12. Heybeli C., Bentall A.J., Alexander M.P. et al. Kidney transplant outcomes of patients with multiple myeloma. *Kidney International Reports*. 2022; 7(4): 752–762. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2022.01.003>