

На правах рукописи

Зотова Ирина Ивановна

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ
И ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ИММУННОЙ
ТРОМБОЦИТОПЕНИЕЙ**

14.01.21 – гематология и переливание крови

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России)

Научные руководители:

Грицаев Сергей Васильевич, доктор медицинских наук
Капустин Сергей Игоревич, доктор биологических наук

Официальные оппоненты:

Зубаровская Людмила Степановна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела детской онкологии, гематологии и трансплантологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Колосков Андрей Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой трансфузиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2018 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.074.01 при ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России по адресу 191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д.16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института и на сайте ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России (www.bloodscience.ru)

Автореферат разослан «___» _____ 2018 года

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Татьяна Валентиновна Глазанова

ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Отличительной чертой иммунной тромбоцитопении (ИТП) является клинико-гематологическая вариабельность, что проявляется различной степенью выраженности геморрагического синдрома (ГС): от отсутствия или минимальных проявлений кровоточивости до развития тяжелых, угрожающих жизни, кровотечений [Neunert C. et al., 2015, Portielje J.E. et al., 2001]. При этом зачастую у больных с идентичными гематологическими показателями может быть различной эффективность одного и того же метода лечения, а также продолжительность ответа на терапию [Den Ottolander G.J. et al., 1984, Mazzucconi M.G. et al., 2017, Park Y.H. et al., 2016, Vianelli N. et al., 2005].

Целью лечения больных ИТП является уменьшение риска развития тяжелых кровотечений и достижение стойкого ответа на терапию [Stasi R. et al., 2004]. Тем не менее, в настоящее время не представляется возможным персонифицировать выбор метода терапии. Причина главным образом заключается в несовершенстве алгоритма лечения и, прежде всего, в отсутствии критериев прогнозирования эффективности терапии. При выборе метода лечения отсутствует принцип индивидуализации, который был бы акцентирован на статусе больного (пол, возраст, образ жизни, сопутствующие болезни) и особенностях течения заболевания (гематологические показатели, степень тяжести ГС, биологический фенотип). Отражением этого является рекомендательный характер действующих руководств по лечению ИТП, которые предполагают смену линий терапии согласно характеру ответа на предшествующее лечение [Масчан А.А. и соавт., 2010, Меликян А.Л. и соавт., 2017, Neunert C. et al., 2011, Provan D. et al., 2010]. В итоге выбор метода терапии и сроков инициации лечения происходят эмпирически, что зачастую сопровождается формированием резистентных вариантов заболевания и инвалидизацией больного.

Предполагается, что клиническая гетерогенность ИТП обусловлена многообразием биологических механизмов, задействованных на этапах возникновения, формирования и развития болезни [Bergmann A. et al., 2010]. Тем самым, не исключено, что под маской ИТП скрываются различные по своей биологической природе заболевания, объединенные в одну группу по общему показателю, а именно изолированной тромбоцитопении. В связи с этим несомненную актуальность представляет исследование молекулярных механизмов развития ИТП и формирования резистентных вариантов заболевания. Одним из перспективных направлений является изучение роли аллельного полиморфизма (АП) генов, участвующих в регуляции мегакариоцитопоэза, функциональной активности тромбоцитов и различных звеньев иммунного ответа.

Анализ литературы свидетельствует о возрастающем интересе к изучению молекулярно-генетической вариабельности ИТП [Bergmann A. et al., 2010, Despotovic J.M. et al., 2015, Li H. et al., 2017, Sood R. et al., 2008].

Основная часть опубликованных работ посвящена изучению АП генов провоспалительных цитокинов (*TNF- α* , *TGF- β 1*, *IL-10*, *IL-6*, *IFN- γ*), участвующих в формировании иммунного ответа, установлению их роли в развитии ИТП и влиянию на эффективность отдельных методов терапии [Li J. et al., 2017, Ghannam D.EI. et al., 2015, Pehlivan M. et al., 2011, Qu M.M. et al., 2017]. Вместе с тем, не исключена роль аллельных вариантов генов тромбоцитарных гликопротеинов (*GPIIIa*, *GPIIb*, *GPIIb* и *GPIa*), определяющих наличие антигенных систем тромбоцитов (HРА-1, -2, -3 и -5), в формировании индивидуальных особенностей иммунологических и гемостатических реакций у пациентов с ИТП [Thude H. et al., 1999]. Как было продемонстрировано в единичных исследованиях, АП генов некоторых цитокинов и тромбоцитарных гликопротеинов может быть сопряжен с различными вариантами ответа на определенные методы лечения больных ИТП, что предполагает возможность формирования самостоятельных (под)вариантов заболевания и персонализацию терапии [Pehlivan M. et al., 2011].

Таким образом, идентификация особенностей генотипа у больных ИТП может быть использована для выявления информативных маркеров диагностики, прогнозирования течения заболевания, выбора наиболее эффективного метода терапии, а также определения перспективных точек воздействия новых «таргетных» лекарственных препаратов в будущем.

Степень разработанности темы

Цель лечения больных ИТП – достижение стойкого ответа. В этой связи принципиальное значение приобретает идентификация показателей, ассоциированных с риском неблагоприятного течения заболевания, и прогнозирование эффективности лечения. В отличие от врожденных патологий гемостаза (болезнь Гланцмана и Бернара-Сулье) [Lentaigne C. et al., 2016] при ИТП отсутствует однозначное представление о роли генотипа в развитии заболевания, формировании тяжести ГС и ответа на лечение, включая стойкий ответ и резистентность к терапии [Pehlivan M. et al., 2011].

Недостаточная изученность ассоциации ответа с клиническими показателями и вариантом АП генов, вовлеченных в патогенез ИТП, обосновывает необходимость дальнейших исследований с целью оптимизации диагностики и лечения данного заболевания.

Цель исследования

Разработать новые подходы к лечению больных иммунной тромбоцитопенией на основе установления клинических и молекулярно-генетических критериев тяжести течения заболевания и ответа на терапию.

Задачи исследования

1. Оценить эффективность глюкокортикостероидов, агонистов рецептора тромбопоэтина и спленэктомии у больных иммунной тромбоцитопенией и выявить клинические предикторы ответа на лечение.

2. Установить особенности аллельного полиморфизма генов тромбоцитарных гликопротеинов (*GPIIIa* T1565C, *GPIIb* T434C, *GPIIb*

T2622G, *GPIa* A1648G) и провоспалительных цитокинов (*IL-6* G-174C, *IL-10* C-592A, *IL-1b* T-31C, *TNF-A* G-308A) у больных иммунной тромбоцитопенией.

3. Определить ассоциативные связи между особенностями генотипа и тяжестью геморрагического синдрома у больных иммунной тромбоцитопенией.

4. Установить зависимость эффективности отдельных методов лечения иммунной тромбоцитопении с особенностями аллельного полиморфизма генов, определяющих антигенные характеристики тромбоцитов и вовлеченных в регуляцию иммунного ответа, в группах больных с различными вариантами ответа на глюкокортикостероиды в первой линии терапии, агонисты рецептора тромбопоэтина и спленэктомию во второй линии.

5. Разработать и предложить алгоритм обследования и лечения больных иммунной тромбоцитопенией с учетом клинических и молекулярно-генетических критериев прогноза течения заболевания и ответа на разные методы терапии.

Научная новизна исследования

Установлена ассоциативная связь пола и возраста больных иммунной тромбоцитопенией с эффективностью терапии глюкокортикостероидами в первой линии. Впервые доказано, что эти и другие клинико-гематологические показатели (длительность заболевания, число тромбоцитов перед началом терапии и степень тяжести геморрагического синдрома) не могут рассматриваться в качестве критериев, прогнозирующих ответ на агонисты рецептора тромбопоэтина и спленэктомию во второй линии.

Впервые установлена роль аллельного полиморфизма генов, определяющих антигенные характеристики тромбоцитов (*GPIIIa* T1565C, *GPIIb* T434C, *GPIIb* T2622G, *GPIa* A1648G), в формировании биологической variability иммунной тромбоцитопении и предрасположенности к возникновению заболевания.

Впервые выявлена связь аллельных вариантов генов, определяющих антигенные характеристики тромбоцитов и вовлеченных в регуляцию иммунного ответа (*IL-6* G-174C, *IL-10* C-592A, *IL-1b* T-31C, *TNF-A* G-308A), с тяжестью течения заболевания и ответом на терапию глюкокортикостероидами, агонистами рецептора тромбопоэтина и спленэктомию.

Разработан алгоритм обследования и лечения больных иммунной тромбоцитопенией с учетом клинического и генетического профиля пациента. Предложены новые критерии стратификации пациентов на группы риска, позволяющие персонализировать выбор лечебного пособия на второй и последующих линиях терапии.

Практическая значимость исследования

Данные проведенного исследования дают основание заключить, что больные иммунной тромбоцитопенией представляют собой гетерогенную

группу, в рамках которой можно выделить различия между отдельными пациентами по характеру течения болезни, тяжести проявлений геморрагического синдрома и ответу на терапию.

Своевременное выявление клинических и генетических маркеров геморрагического синдрома тяжелой степени или резистентного течения иммунной тромбоцитопении позволяет индивидуализировать выбор метода лечения с определением группы прогноза течения заболевания и ответа на терапию. Обнаруженная ассоциативная связь биологического фенотипа иммунной тромбоцитопении с вариантом ответа на терапию предоставляет возможность прогнозировать его на этапе диагностики заболевания, что позволит оптимизировать выбор лечебной тактики.

Результаты исследования предоставили дополнительную информацию, которая явилась основанием для разработки алгоритма диагностики и лечения больных иммунной тромбоцитопенией.

Методология и методы исследования

В работе использованы клинико-лабораторные, молекулярно-генетические и статистические методы.

Положения, выносимые на защиту

1. Предрасположенность к развитию иммунной тромбоцитопении, вариабельность клинических проявлений и ответа на терапию обусловлены, в том числе, демографическими и генетическими характеристиками пациента, что указывает на необходимость персонифицированного подхода к диагностике и лечению. Использование стандартного алгоритма лечения, не учитывающего индивидуальных особенностей пациента, ассоциировано с вероятностью неудачи терапии как в первой, так и во второй линии, и формированием резистентных вариантов заболевания.

2. Неблагоприятными прогностическими факторами ответа на терапию глюкокортикостероидами в первой линии являются мужской пол, а также возраст пациента менее 20 и более 50 лет (независимо от пола) на момент постановки диагноза. Возраст и пол больного, продолжительность иммунной тромбоцитопении, число тромбоцитов в периферической крови перед началом терапии и степень тяжести геморрагического синдрома не являются предикторами ответа на спленэктомию и агонисты рецептора тромбопоэтина во второй линии терапии.

3. Полиморфизм T2622G гена *GPIIb* обладает высокой патогенетической и клинической значимостью при иммунной тромбоцитопении. Установлена его ассоциация с риском возникновения заболевания, степенью тяжести геморрагического синдрома и ответом на глюкокортикостероиды в первой линии терапии.

4. Типирование полиморфизма генов *GPIIb* T2622G и *GPIa* A1648G позволяет прогнозировать ответ на терапию первой и второй линии и стратифицировать больных иммунной тромбоцитопенией на группы благоприятного и неблагоприятного течения заболевания. Генотип *GPIIb* 2622TG ассоциирован со стойким ответом на глюкокортикостероиды в

первой линии терапии, генотип *GPIa* 1648AA ассоциирован со стойким ответом на спленэктомию и ответом на агонисты рецептора тромбопоэтина во второй линии терапии.

Степень достоверности, публикации и апробация диссертации

Степень достоверности результатов проведенного исследования подтверждается объемом исследований, набором и характером оцениваемых показателей, использованием статистических программ для обработки полученных данных.

По теме диссертации опубликовано 23 печатные работы, из них 4 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для опубликования научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата и доктора медицинских наук.

Результаты, полученные в процессе выполнения работы, были представлены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2011, 2012, 2014), Межрегиональной научно-практической конференции «Прогресс в терапии ИТП: новые лечебные подходы в теории и практике» (Московская обл., 2013), II Конгрессе гематологов России (Москва, 2014), научно-практической конференции «Гематология на стыке специальностей. Нарушения системы гемостаза» (Калининград, 2015), конференции «Иммунная тромбоцитопения и миелодиспластические синдромы: новые аспекты диагностики и лечения» (Москва, 2016), научно-практическом расширенном экспертном совете по вопросам лечения ИТП (Москва, 2016), III Конгрессе гематологов России (Москва, 2016), научно-практической конференции «Тромбоцитопения в практике врача многопрофильного стационара: вопросы дифференциальной диагностики и выбора оптимального лечения» (Санкт-Петербург, 2016), Юбилейной научной конференции «Кафедра факультетской терапии: сохраняя традиции Боткинской школы» (Санкт-Петербург, 2016), XIII международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2018).

Материалы также были представлены в виде стендовых докладов на I Конгрессе гематологов России (Москва, 2012), 19-ом Конгрессе Европейской Гематологической Ассоциации (19th Congress of the European Hematology Association, Милан, Италия, 2014), 22-ом Конгрессе Европейской Гематологической Ассоциации (22nd Congress of the European Hematology Association, Мадрид, Испания, 2017), IV Конгрессе гематологов России (Москва, 2018).

Личный вклад автора

Автором лично выполнялись: анализ источников литературы, планирование диссертационного исследования, сбор анамнеза, диагностика, назначение терапии и последующий мониторинг лечения. Диссертантом создана база данных больных иммунной тромбоцитопенией, выполнено обобщение и интерпретация полученных в ходе исследования результатов,

проведен статистический анализ. Автор самостоятельно представлял результаты работы в выступлениях на научных конференциях и конгрессах.

Структура и объем работы

Диссертационная работа изложена на 131 странице машинописного текста и состоит из введения, глав обзора литературы, описания методов исследования, результатов исследования, заключения, практических рекомендаций и библиографии. Список литературы включает 141 источник литературы на русском и иностранном языках. Работа содержит 7 рисунков и 26 таблиц.

Внедрение результатов исследования

Основные положения диссертации внедрены в учебный процесс учебно-методического отделения ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства». Результаты исследования применяются в лечебно-диагностической работе клинко-диагностического отделения гематологии (гематологии и химиотерапии) ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

Подана заявка на патент РФ № 2018126148/15(041449) от 13.07.2018 г. на изобретение «Способ лечения иммунной тромбоцитопении». Заявка принята к рассмотрению.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы исследования

В исследование был включен 151 больной ИТП (119 женщин и 32 мужчин). Медиана возраста при верификации диагноза составила 39 лет (диапазон 18-74 лет), медиана количества тромбоцитов $19 \times 10^9/\text{л}$ (диапазон $1-74 \times 10^9/\text{л}$). Терапия глюкокортикостероидами (ГКС) в первой линии проведена 151 пациенту (100%), все больные получали преднизолон. Проведение второй линии терапии потребовалась 95 (63%) больным, при этом спленэктомия (СЭ) была произведена 47 пациентам, 48 больных получили агонисты рецептора тромбопоэтина (аТПО-р).

Результативность проводимого лечения оценивалась по следующим параметрам. Ответ на терапию ГКС и СЭ: достижение количества тромбоцитов $>50 \times 10^9/\text{л}$ в отсутствие кровотечений. Ответ на терапию аТПО-р: достижение количества тромбоцитов $>50 \times 10^9/\text{л}$ в отсутствие кровотечений при условии поддержания целевого уровня тромбоцитов ($50-200 \times 10^9/\text{л}$) без необходимости применения какой-либо сопутствующей терапии. Отсутствие ответа на терапию ГКС и СЭ: количество тромбоцитов $<50 \times 10^9/\text{л}$ или продолжающееся кровотечение. Отсутствием ответа на терапию аТПО-р считалась невозможность повышения количества тромбоцитов до $50 \times 10^9/\text{л}$, в течение 4 недель терапии аТПО-р в максимально допустимых дозах. Длительность ответа определялась как время, прошедшее от достижения ответа до его потери. Ответ на терапию ГКС и СЭ считался стойким в случае

продолжительности достигнутого ответа >12 месяцев. Стойкий ответ на терапию аТПО-р определялся при поддержании числа тромбоцитов на уровне $>50 \times 10^9/\text{л}$ в отсутствие геморрагических проявлений и потребности в какой-либо терапии ИТП в течение не менее 6 месяцев после отмены препарата.

С целью систематизации полученных данных на этапе анализа ответа на терапию было проведено разделение больных на группы и подгруппы с учетом следующих клинических показателей: пол, возраст на момент установления диагноза ИТП, число тромбоцитов перед началом терапии, вариант ответа на терапию, степень тяжести ГС (классификация ВОЗ), длительность ИТП с момента диагностики.

По полу пациенты были распределены в две группы: мужчины и женщины. По возрасту были сформированы три группы: <20, 20-50 и >50 лет. По числу тромбоцитов перед началом терапии больные были сгруппированы в три группы: <10, 10-30 и $>30 - <50 \times 10^9/\text{л}$. По варианту ответа на ГКС и СЭ больные были распределены в три группы: ответ, стойкий ответ и отсутствие ответа. В свою очередь больные, получавшие аТПО-р, были разделены на группы с ответом на фоне терапии, стойким после отмены аТПО-р и отсутствием ответа. Степень тяжести ГС послужила основанием для выделения трех групп: 0-1, 2-3 и 4 степени. По длительности ИТП были образованы три группы: 1-3 года, от 3 до 5 лет и более 5 лет.

Методы исследования

При установлении диагноза ИТП проводился сбор жалоб, анамнеза и объективный осмотр больного. Клинический анализ крови выполнялся с помощью гематологического анализатора с подсчетом числа тромбоцитов методом Фонио. Диагноз первичной ИТП устанавливался путем исключения заболеваний и состояний, способных вызывать и поддерживать тромбоцитопению (вторичные тромбоцитопении).

В качестве материала для исследования АП тромбоцитарных гликопротеинов *GPIIIa* T1565C, *GPIIb* T434C, *GPIIb* T2622G и *GPIa* A1648G и цитокинов *IL-6* G-174C, *IL-10* C-592A, *IL-1b* T-31C, *TNF-A* G-308A использовалась периферическая кровь больных ИТП и доноров крови в качестве контрольной группы. Для генотипирования применялся метод ПЦР-ПДРФ, основанный на полимеразной цепной реакции (ПЦР) и последующем анализе полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) продуктов ПЦР, обработанных специфическими эндонуклеазами рестрикции. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови, стабилизированной ЭДТА в конечной концентрации 0,25%, с помощью солевого метода согласно S. Miller et al. (1988). После измерения ее концентрации на спектрофотометре, проводили амплификацию 50-300 нг образца ДНК в стандартных условиях. По окончании ПЦР продукты реакции инкубировали с 10-15 ед. соответствующей эндонуклеазы рестрикции в течение 16-24 часов, после чего проводили электрофорез в 6% полиакриламидном геле.

Генотип пациента определяли в соответствии с набором фрагментов ДНК, выявленных в геле в результате проведения ПЦР-ПДФ анализа.

Статистические методы исследования

Статистическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере с помощью программ STATISTICA 10.0 (StatSoft), Craph Pad Prism 4.0 (Craph Pad Software Inc., San Diego, USA) и SPSS 23. При оценке вероятности достижения того или иного вида ответа на терапию в зависимости от клинических показателей применяли однофакторный регрессионный анализ на основе логистической регрессии и рассчитывали «отношение шансов» (OR – odds ratio). Для описания полученных данных определяли значение медианы и 95% доверительного интервала (CI – confidence interval), а также р-значение. Частоты встречаемости генотипов определяли прямым подсчетом. Для оценки степени различий в частоте встречаемости генотипов между исследуемыми группами использовался точный критерий Фишера. Соответствие распределения генотипов в обследованных группах каноническому распределению Харди-Вайнберга оценивали с помощью критерия хи-квадрат. Во всех случаях статистическая значимость различий принималась при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ассоциация клинических показателей больных иммунной тромбоцитопенией с ответом на терапию

При проведении оценки ответа на терапию преднизолоном, аТПО-р и СЭ были получены данные, представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Оценка ответа на терапию

Вариант ответа	Преднизолон, первая линия	Спленэктомия, вторая линия	Агонисты рецептора ТПО, вторая линия
Ответ, n (%)	74 (49,0%)	11 (23,4%)	40 (83,3%)
Стойкий ответ, n (%)	27 (17,9%)	29 (61,7%)	5 (10,4%)
Отсутствие ответа, n (%)	50 (33,1%)	7 (14,9%)	3 (6,4%)
Всего, n	151	47	48

Ответ на терапию преднизолоном в первой линии достигнут у 101 пациента (66,9%), при этом стойкий ответ зарегистрирован у 27 (17,9%) больных, резистентными к терапии оказались 50 пациентов (33,1%). Ответа на СЭ во второй линии удалось достичь у 40 пациентов (85,1%). Ответ констатирован у 11 (23,4%) больных, в то время как стойкий ответ у 29 (61,7%), отсутствие ответа зафиксировано у 7 (14,9%) пациентов. Среди больных, получавших аТПО-р во второй линии терапии, ответа удалось достичь у 45 (93,7%) из них, при этом ответ на фоне продолжающейся

терапии сохранялся у 40 (83,3%) больных и у 5 (10,4%) пациентов отмечалось развитие стойкого ответа (ремиссии) после отмены терапии аТПО-р. Резистентными к терапии оказались 3 (6,4%) больных.

В дальнейшем была проведена оценка влияния клинических показателей больных ИТП (пол, возраст, длительность ИТП, число тромбоцитов перед началом терапии, степень тяжести ГС) на эффективность терапии. Сравнивали развитие ответа и стойкого ответа по сравнению с отсутствием ответа у пациентов, получавших ГКС и СЭ. В отношении больных, получавших аТПО-р, сравнивали развитие ответа на терапию, стойкого ответа после отмены терапии по сравнению с отсутствием ответа.

Для оценки связи проанализированных показателей с видом ответа на терапию использовали однофакторный регрессионный анализ с применением логистической регрессии; сравнение проводили с группой больных, не достигших ответ. Анализ выполнялся отдельно для каждого метода лечения. На основании полученных результатов установлена статистически значимая зависимость вероятности достижения ответа на терапию преднизолоном от двух показателей – пола и возраста пациентов. На рисунке 1 представлено распределение пациентов согласно достигнутому ответу на терапию преднизолоном в зависимости от пола.

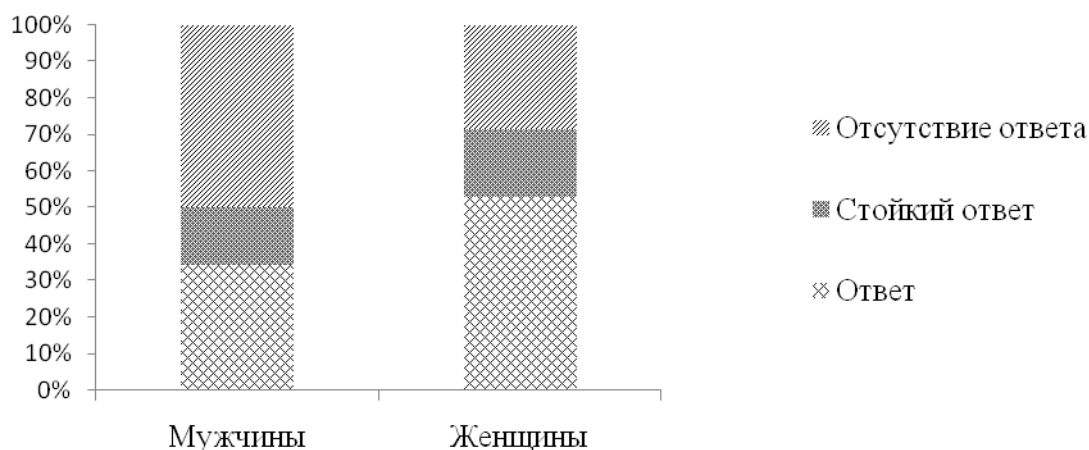


Рисунок 1 – Распределение пациентов по виду ответа на терапию преднизолоном согласно полу

Вероятность отсутствия ответа на терапию преднизолоном по сравнению с ответом у мужчин больше, чем у женщин (OR=0,37, 95% CI: 0,16-0,89; p=0,026).

На рисунке 2 представлено распределение пациентов согласно достигнутому ответу на терапию преднизолоном в зависимости от возраста.

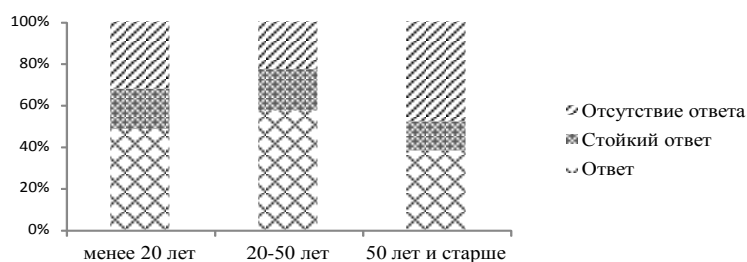


Рисунок 2 – Распределение пациентов по виду ответа на терапию преднизолоном согласно возрасту

Вероятность отсутствия ответа на терапию преднизолоном в сравнении с ответом у пациентов 20-50 лет меньше, чем у пациентов старше 50 лет и младше 20 лет (OR=3,16, 95% CI: 1,37-7,28; $p=0,007$).

Статистически значимая зависимость достижения ответа на терапию преднизолоном от таких показателей, как длительность ИТП, число тромбоцитов перед началом терапии и выраженность ГС не выявлена ($p>0,05$). Не выявлены статистически значимые различия вероятностей достижения ответа на лечение в зависимости от показателей при проведении СЭ и терапии аТПО-р ($p>0,05$), что может быть связано с недостаточным количеством наблюдений в группах.

Оценка влияния аллельного полиморфизма генов, определяющих антигенные характеристики тромбоцитов, на развитие иммунной тромбоцитопении и тяжесть геморрагического синдрома

Для изучения связи АП генов, определяющих антигенные характеристики тромбоцитов, с вероятностью развития ИТП и степенью тяжести ГС был проведен сравнительный анализ распределения аллельных вариантов изученных генов у 67 больных ИТП и в контрольной группе (КГ), состоящей из 147 доноров крови (таблица 2).

Таблица 2 – Распределение генотипов у больных иммунной тромбоцитопенией и в контрольной группе

Ген, полиморфизм	Генотип	Частота встречаемости генотипа, %		OR (95% CI)	p
		ИТП (n=67)	КГ (n=147)		
<i>GPIIIa</i> , T1565C (HPA-1)	1565 TC	22,4	32,0	0,6 (0,3-1,2)	0,16
<i>GPIIb</i> , T2622G (HPA-3)	2622TG	38,8	52,2	0,6 (0,3-1,1)	0,11
	2622GG	23,9	11,4	2,4 (1,0-5,8)	0,005

Наиболее выраженное отличие группы больных от КГ было обнаружено при анализе полиморфизма T2622G гена *GPIIb*, ответственного за формирование аллоантигенной системы тромбоцитов HPA-3. Доля гомозигот 2622GG (HPA-3В/3В) среди пациентов с ИТП более чем в два раза превышала таковую в КГ: 23,9% против 11,4% соответственно, OR=2,4, 95% CI: 1,0-5,8; p=0,005. В то же время, частота встречаемости (ЧВ) гетерозигот 2622TG по гену *GPIIb* в группе больных была ниже, но не достигала статистически значимого различия: 38,8% против 52,2% в контроле, OR=0,6, 95% CI: 0,3-1,1; p=0,11. В группе больных наблюдалось также снижение доли гетерозигот 1565TC по гену *GPIIIa* (22,4% против 32,0% в норме, OR=0,6, 95% CI: 0,3-1,2; p=0,16). Однако эти различия не были статистически значимыми (таблица 19).

По степени тяжести ГС были сформированы 2 группы больных. В первую вошли 40 пациентов с ГС 0-1 степени тяжести, вторая включала 27 больных с ГС 2-4 степени. С целью установления ассоциации между степенью тяжести ГС и АП изученных генов был проведен сравнительный анализ распределения генотипов в группах больных (таблица 3).

Таблица 3 – Распределение генотипов у больных иммунной тромбоцитопенией в зависимости от степени тяжести геморрагического синдрома

Ген, полиморфизм	Генотип	Частота встречаемости генотипа, %		OR (95% CI)	p
		ГС 0-1 степ. (n=40)	ГС 2-4 степ. (n=27)		
<i>GPIba</i> , C434T (HPA-1)	434CT	22,5	7,4	3,6 (0,7-18,4)	0,18
<i>GPIIb</i> , T2622G (HPA-3)	2622TT	25,0	55,6	0,3 (0,13-1,1) 2,5 (0,7-8,7)	0,02 0,24
	2622GG	30,0	14,8		

Более половины пациентов с тяжелым течением ГС являлись гомозиготами по аллелю 2622Т гена *GPIIb* (HPA-3A/3A), тогда как в группе больных с незначительными геморрагическими проявлениями доля таких лиц составила лишь 25,0%: OR=0,3, 95% CI: 0,13-1,1; p=0,02. Напротив, гомозиготное носительство аллеля 2622G в два раза чаще обнаруживалось среди больных с легкой степенью тяжести ГС (30,0% против 14,8% в группе ГС 2-4 степени, OR=2,5, 95% CI: 0,7-8,7; p=0,24), однако это различие не было статистически значимым. Кроме того, в группе с ГС 0-1 степени отмечалось 3-х кратное увеличение ЧВ гетерозигот по гену *GPIba* (434CT, HPA-2A/2B), по сравнению с группой пациентов с тяжелым течением ГС: 22,5% против 7,4% соответственно, OR=3,6, 95% CI: 0,7-18,4; p=0,18, однако это различие оказалось статистически не значимым.

Анализ влияния аллельного полиморфизма генов, вовлеченных в регуляцию иммунного ответа и определяющих антигенные характеристики тромбоцитов, на эффективность глюкокортикостероидов, агонистов рецептора тромбопоэтина и спленэктомии

С целью установления связи эффективности терапии преднизолоном с ЧВ аллельных вариантов изученных генов, был проведен сравнительный анализ распределения генотипов в двух группах больных: достигших стойкий ответ на терапию и ответ (таблица 4).

Таблица 4 – Распределение генотипов у больных иммунной тромбоцитопенией с вариантами ответа на терапию кортикостероидами

Ген, полиморфизм	Генотип	Частота встречаемости генотипа, %		OR (95% CI)	P
		Стойкий ответ (n=18)	Ответ (n=42)		
<i>GpIIb</i> , T2622G (HPA-3)	2622TG	72,2	30,9	5,8 (1,7-19,7) 0,15 (0,02-1,23)	0,005 0,08
	2622GG	5,6	28,6		
<i>IL-6</i> , G-174 C	-174GG	11,1	28,6	0,3 (0,1-1,6) 2,6 (0,8-8,6)	0,19 0,16
	-174GC	72,2	50,0		

Значимое отличие группы больных со стойким ответом на преднизолон от группы пациентов с ответом обнаружено при анализе АП T2622G гена *GPIIb*, ответственного за формирование аллоантигенной системы тромбоцитов HPA-3. Доля гетерозигот 2622TG (HPA-3A/3B) среди пациентов со стойким ответом более чем в два раза превысила таковую в группе с ответом: 72,2% против 30,9% соответственно, OR=5,8, 95% CI: 1,7-19,7; p=0,005. В то же время, ЧВ гомозигот по гену *GPIIb* (генотип 2622GG) в группе стойкого ответа оказалась в 5 раз ниже, но не достигала статистически значимого различия: 5,6% против 28,6% в группе с ответом, OR=0,15, 95% CI: 0,02-1,23; p=0,08. Кроме того, в группе больных со стойким ответом наблюдалось снижение доли гомозигот по гену *IL-6* (генотип -174GG): 11,1% против 28,6% при достижении ответа, OR=0,3, 95% CI: 0,1-1,6; p=0,19) и, напротив, некоторое увеличение ЧВ гетерозигот по гену *IL-6* (генотип -174GC): 72,2 % против 50,0% в случае ответа, OR=2,6, 95% CI: 0,8-8,6; p=0,16). Однако эти различия не были статистически значимыми. Анализ распределения аллельных вариантов остальных изученных генов не выявил статистических значимых различий между подгруппами больных, выделенных в зависимости от варианта ответа на КС в первой линии терапии (таблица 4).

С целью выявления возможных генетических маркеров ответа на СЭ во второй линии терапии был проведен сравнительный анализ распределения аллельных вариантов изученных генов в двух группах больных: достигших стойкий ответ на терапию и тех, кто ответил на терапию или не достиг ответа (таблица 5).

Таблица 5 – Распределение генотипов у больных иммунной тромбоцитопенией с вариантами ответа на спленэктомию

Ген, полиморфизм	Генотип	Частота встречаемости генотипа, %		OR (95% CI)	P
		Стойкий ответ (n=13)	Ответ + отсутствие ответа (n=9)		
<i>GpIa</i> , A1648G (HPA-5)	1648AA 1648AG	100,0 28,8	44,4 55,6	33,0 (1,5-722,5) 0,6 (0,3-1,1)	0,005 0,11
<i>IL-1B</i> , T-31 C	-31TC	15,4	44,4	0,23 (0,03-1,68)	0,18

Все пациенты (100%) со стойким ответом на СЭ являлись гомозиготами по аллелю 1648А гена *GPIa* (HPA-5A/5A), тогда как в группе больных с ответом и отсутствием ответа доля таких лиц составила лишь 44,0%: OR=33,0, 95% CI: 1,5-722,5; p=0,005. В то же время, ЧВ гетерозигот по гену *GpIa* (генотип 1648AG) в группе стойкого ответа оказалась ниже: 28,8% против 55,6% в группе ответивших больных, или не достигших ответа, OR=0,6, 95% CI: 0,3-1,1, однако это различие оказалось статистически незначимым (p=0,11). Кроме этого, в группе больных с ответом и отсутствием ответа на СЭ отмечалось увеличение ЧВ гетерозигот по гену *IL-1B* (генотип -31TC) в сравнении с группой стойкого ответа: 44,4% против 15,4% соответственно, OR=0,23, 95% CI: 0,03-1,68; p=0,18, однако это различие не было статистически значимым. Анализ распределения аллельных вариантов остальных изученных генов не выявил статистически значимых различий между подгруппами больных, выделенных в зависимости от варианта ответа на СЭ во второй линии терапии (таблица 5).

Для поиска потенциальных молекулярно-генетических маркеров ответа на аТПО-р, мы разделили больных на две группы: достигших ответа на терапию и тех, кто не достиг ответа. В первую группу вошли 32 пациента, достигших ответа на терапию, из них 26 больных продолжали терапию с целью поддержания достигнутого ответа и у 6 пациентов развился стойкий ответ с отменой терапии аТПО-р. Группу с отсутствием ответа составили 5 больных (таблица 6).

Таблица 6 – Распределение вариантов аллельного полиморфизма изученных генов у больных ИТП с различными вариантами ответа на агонисты рецептора тромбопоэтина

Ген, полиморфизм	Генотип	Частота встречаемости генотипа, %		OR (95% CI)	P
		Ответ (n=32)	Отсутствие ответа (n=5)		
<i>GpIba</i> , C434T (HPA-2)	434CC	90,6	60,0	6,4 (0,8-55,3)	0,13
<i>GpIIb</i> , T2622G (HPA-3)	2622GG	18,8	60,0	0,15 (0,02-1,13)	0,08
<i>GPIa</i> , A1648G (HPA-5)	1648AA	87,5	20,0	28,0 (2,5-317,9)	0,005

Наиболее выраженное отличие группы больных с ответом на терапию аТПО-р от пациентов, не достигших ответа, выявлено при анализе полиморфизма A1648G гена *GPIa*, ответственного за формирование аллоантигенной системы тромбоцитов HPA-5. Доля гомозигот 1648AA (HPA-5A/5A) среди пациентов с ответом в четыре раза превысила таковую в группе с его отсутствием: 87,5% против 20,0% соответственно, OR=28,95% CI: 2,5-317,9; p=0,005. В группе больных с ответом на терапию аТПО-р также наблюдалось снижение доли гомозигот по гену *GpIIb* (18,8% против 60,0% при отсутствии ответа, OR=0,15, 95% CI: 0,02-1,13; p=0,08) и, напротив, некоторое увеличение частоты встречаемости генотипа 434 CC гена *GpIba* (90,6% против 60,0% в случае отсутствия ответа, OR=6,4, 95% CI: 0,8-55,3; p=0,13). Однако эти различия не были статистически значимыми. Анализ распределения аллельных вариантов остальных изученных генов не выявил статистических значимых различий между подгруппами больных, выделенных в зависимости от варианта ответа на аТПО-р во второй линии терапии (таблица 6).

Разработка алгоритма обследования и лечения больных иммунной тромбоцитопенией с учетом клинического и молекулярно-генетического прогнозирования

Результаты проведенного исследования дают основание для разработки алгоритма обследования и лечения больных ИТП на основе стратификации на группы благоприятного и неблагоприятного прогноза (рисунок 3,4).



Рисунок 3 – Алгоритм диагностики и лечения больных иммунной тромбоцитопенией с благоприятным прогнозом

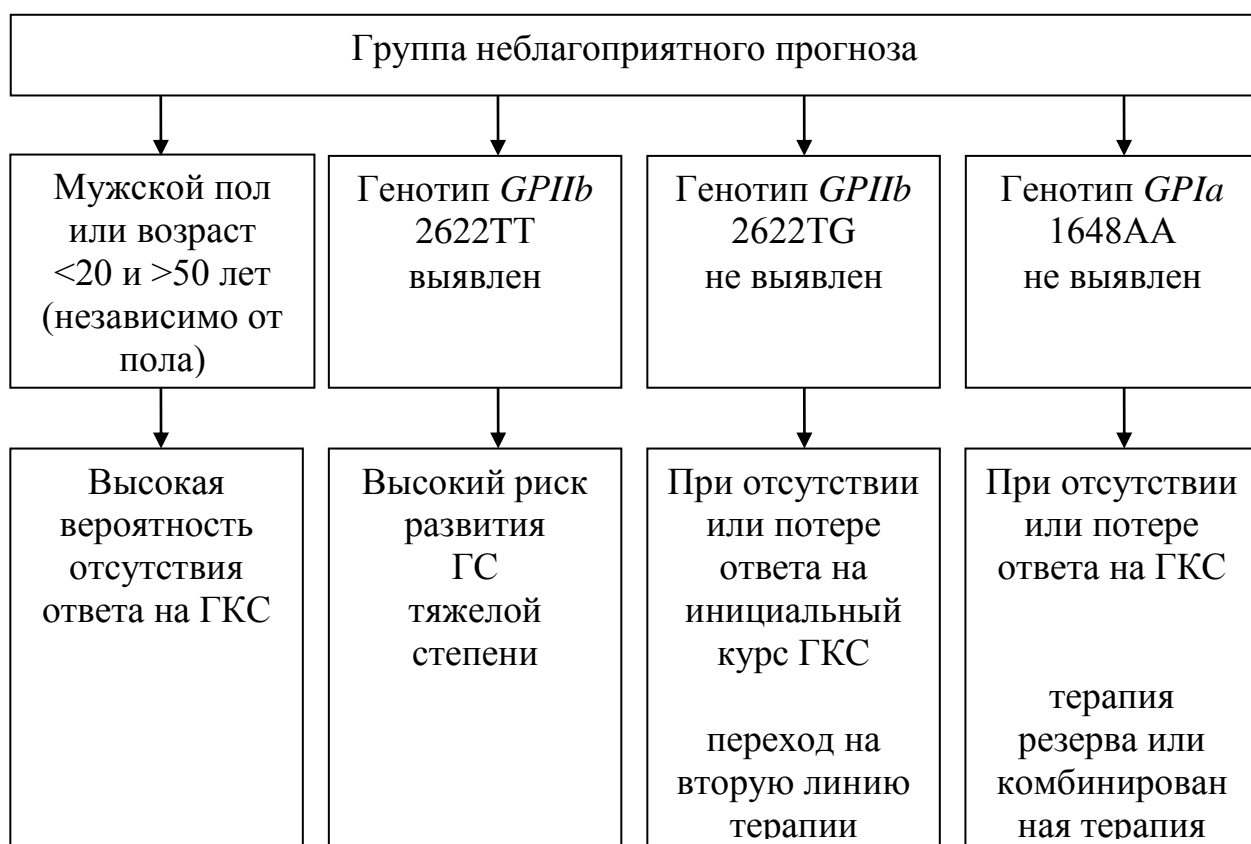


Рисунок 4 – Алгоритм диагностики и лечения больных иммунной тромбоцитопенией с неблагоприятным прогнозом

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что вероятность отсутствия ответа на применение глюкокортикостероидов в первой линии терапии иммунной тромбоцитопении выше у мужчин, чем у женщин и у пациентов, диагноз которым был установлен в возрасте моложе 20 и старше 50 лет (независимо от пола), в сравнении с больными 20-50 лет. Не выявлено корреляционной зависимости между ответом на спленэктомию и агонисты рецептора тромбопоэтина во второй линии и клиническими показателями: пол, возраст, длительность течения иммунной тромбоцитопении, число тромбоцитов в периферической крови перед началом терапии и степень тяжести геморрагического синдрома.

2. Частота встречаемости генотипа *GPIIb* 2622GG в группе больных иммунной тромбоцитопенией (23,9%) значительно выше по сравнению с контрольной группой (11,4%), что свидетельствует об участии указанного полиморфизма в патогенезе заболевания.

3. Генотип *GPIIb* 2622TT является предиктором развития геморрагического синдрома тяжелой степени тяжести у пациентов с иммунной тромбоцитопенией.

4. У больных иммунной тромбоцитопенией генотип *GPIIb* 2622TG ассоциирован с развитием стойкого ответа на терапию глюкокортикостероидами в первой линии. Генотип *GPIa* 1648AA ассоциирован со стойким ответом на спленэктомию и ответом на агонисты рецептора тромбопоэтина во второй линии терапии.

5. Разработан алгоритм обследования и лечения пациентов с иммунной тромбоцитопенией путем стратификации на группы благоприятного и неблагоприятного прогноза с учетом выявления клинических и молекулярно-генетических критериев тяжести течения заболевания и ответа на отдельные методы терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам мужского пола и/или имевших дебют иммунной тромбоцитопении в возрасте моложе 20 и старше 50 лет (независимо от пола) в случае отсутствия или потери ответа на инициальную терапию глюкокортикостероидами повторное их назначение нецелесообразно и рекомендован переход к вариантам терапии второй линии.

2. С целью оптимизации лечения больных иммунной тромбоцитопенией необходимо индивидуализировать выбор метода терапии и сроков ее инициации, основываясь на изучении клинических и молекулярно-генетических маркеров прогноза тяжести геморрагического синдрома и ответа на терапию. В перечень обследования больных на этапе диагностики ИТП рекомендуется включать изучение аллельного полиморфизма генов *GPIIb* T2622G и *GPIa* A1648G.

3. Генотип *GPIIb* 2622ТТ необходимо рассматривать как прогностический критерий неблагоприятного течения иммунной тромбоцитопении, сопровождающегося развитием геморрагического синдрома тяжелой степени, что рекомендуется учитывать при определении варианта терапии и сроков ее инициации.

4. При планировании терапии у больных с впервые выявленной иммунной тромбоцитопенией рекомендуется учитывать, что генотип *GPIIb* 2622ТГ является маркером благоприятного течения заболевания и ассоциирован со стойким ответом на применение глюкокортикостероидов в первой линии терапии. В случае неудачи инициальной терапии ГКС, отсутствие указанного генотипа может являться основанием для отказа от их повторного назначения и раннего перехода к методам терапии второй линии.

5. При выборе метода терапии второй линии необходимо учитывать наличие генотипа *GPIa* 1648АА, ассоциированного со стойким ответом как на агонисты рецептора тромбопоэтина, так и на спленэктомию. Выбор в пользу агонистов рецептора тромбопоэтина может быть рекомендован больным старшей возрастной группы или/и при наличии противопоказаний к оперативному вмешательству, а также в случае отказа пациента от проведения спленэктомии. Отсутствие указанного генотипа позволяет предположить высокую вероятность развития резистентного течения иммунной тромбоцитопении и выделять группу больных, которым показано назначение препаратов резерва (иммуносупрессивная терапия, химиотерапия) или комбинированного варианта лечения.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Масчан А.А. Современные методы диагностики и лечения первичной иммунной тромбоцитопении (по итогам совещания экспертов) / А.А. Масчан, Л.Г. Ковалева, А.Г. Румянцев, В.Г. Савченко, В.В. Птушкин, Н.В. Цветаева, И.А. Лисуков, Г.Н. Салогуб, А.К. Голенков, Н.В. Медведева, О.А. Рукавицын, В.Л. Иванова, К.М. Абдулкадыров, И.И. Зотова, А.Д. Кулагин // Вопросы гематологии/онкологии и иммунотерапии в педиатрии. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 5 – 14.

2. Абдулкадыров К.М. Опыт использования ромиплостима при хронической идиопатической тромбоцитопенической пурпуре, резистентной к предшествующей терапии / К.М. Абдулкадыров, И.И. Зотова, Е.Р. Шилова, С.В. Грицаев // Вестник гематологии. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 64 – 65.

3. Зотова И.И. Современный взгляд на патогенез и лечение идиопатической тромбоцитопенической пурпуры / И.И. Зотова // Вестник гематологии. – 2011. – Т. 7, № 4. – С. 82 – 83.

4. Зотова И.И. Опыт использования ромиплостима при хронической иммунной тромбоцитопении, резистентной к предшествующей терапии / И.И. Зотова, К.М. Абдулкадыров // Гематология и трансфузиология. – 2012. – Т. 57, № 3. – С. 48 – 49.

5. Зотова И.И. Иммунная тромбоцитопения: современный взгляд на патогенез и лечение / И.И. Зотова // Вестник гематологии. – 2012. – Т. 8, № 2. – С. 16 – 29.
6. Abdulkadyrov K. The effectiveness and safety of the thrombopoietin (TPO) receptor agonists in the treatment of adults with chronic immune thrombocytopenia (ITP) refractory to other treatments / K. Abdulkadyrov, I. Zotova // Haematologica. – 2013. – Vol. 98 (Suppl. 1). – P. 738.
7. Зотова И.И. Ромиплостим: эффективность и безопасность при иммунной тромбоцитопении. Опыт применения в клинической практике / И.И. Зотова, С.В. Грицаев, Е.Р. Шилова, К.М. Абдулкадыров // Гематология и трансфузиология. – 2014. – Т. 59, № 1. – С. 96.
8. Zotova I. Romiplostim: efficacy and safety in patients with immune thrombocytopenia (ITP), single centre experience / I. Zotova, K. Abdulkadyrov // Haematologica. – 2014. – Vol. 99 (Suppl. 1). – P. 208.
9. Зотова И.И. Ромиплостим: эффективность и безопасность при иммунной тромбоцитопении (ИТП). Опыт применения в клинической практике / И.И. Зотова, К.М. Абдулкадыров // Вестник гематологии. – 2014. – Т. 10, № 2. – С. 28.
10. Зотова И.И. Агонисты рецептора тромбопоэтина в лечении первичной иммунной тромбоцитопении: эффективность и безопасность в повседневной клинической практике одного медицинского центра / И.И. Зотова, С.В. Грицаев, Е.Р. Шилова, Н.А. Потихонова, К.М. Абдулкадыров, А.В. Чечеткин // Вестник гематологии. – 2015. – Т. 11, № 4. – С. 4 – 12
11. Зотова И.И. Агонисты рецептора тромбопоэтина в лечении первичной иммунной тромбоцитопении: эффективность и безопасность в повседневной клинической практике / И.И. Зотова, С.В. Грицаев, Е.Р. Шилова, Н.А. Потихонова, К.М. Абдулкадыров, А.В. Чечеткин // Гематология и трансфузиология. – 2016. – Т. 61, № 1. – С. 18.
12. Меликян А.Л. Промежуточные результаты регистра взрослых больных первичной иммунной тромбоцитопенией / А.Л. Меликян, Е.И. Пустовая, Т.И. Колошейнова, Л.Н. Грицай, Ю.В. Губина, Т.В. Есенина, Е.Н. Зотина, И.И. Зотова, В.Л. Иванова, М.В. Калинина, И.Н. Контиевский, Е.И. Кузуб, О.А. Пяткова, М.Т. Савинова, Е.Ю. Сосункевич, Е.Б. Черемисина, С.М. Куликов // Гематология и трансфузиология. – 2016. – Т. 61, № 1. – С. 23.
13. Zotova I. Thrombopoietin receptor agonists in the treatment of primary ITP: experience of application in clinical practice one medical center / I. Zotova, S. Gritsaev, E. Shilova, K. Abdulkadyrov, A. Chechetkin // Haematologica. – 2016. – Vol. 101 (Suppl. 1). – P. 832.
14. Melikyan A.L. Incidence of Primary Immune Thrombocytopenia (ITP) in Adults in One Region of Russia / A.L. Melikyan, E.I. Pustovaya, E.M. Volodicheva, T.I. Kolosheinova, M.V. Kalinina, E.N. Zotina, I.N. Kontievskiy, I.I. Zotova, V.L. Ivanova, Y.V. Gubina, O.M. Bekker, N.V. Kurkina, I.S. Sokolova, T.N. Babaeva, T.M. Sycheva, M.T. Savinova, Y.A. Sedlova, N.D. Baigisheva,

V.S. Bogova, E.A. Borisenkova, E.I. Kuzub, E.Yu. Kalinovskaya, M.A. Rusinov, S.M. Kulikov, V.G. Savchenko // Blood. – 2016. – Vol. 128, № 22. – P. 4941.

15. **Зотова И.И. Агонисты рецептора тромбопоэтина в лечении идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении): эффективность и безопасность в повседневной клинической практике / И.И. Зотова, С.В. Грицаев, Е.Р. Шилова, Н.А. Потихонова, К.М. Абдулкадыров, А.В. Четкин // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2017. – Т. 10, № 1. – С. 93 – 100.**

16. Зотова И.И. Особенности аллельного полиморфизма генов некоторых цитокинов у больных хронической иммунной тромбоцитопенией / И.И. Зотова, С.И. Капустин, Ю.С. Дрижун, С.П. Свитина, А.А. Павлова, И.Е. Павлова, С.С. Бессмельцев, А.В. Четкин, С.В. Грицаев // Вестник гематологии. – 2017. – Т. 13, № 3. – С. 31.

17. Zotova I. HPA-3A/3A genotype is a possible risk factor of severe hemorrhagic syndrome in patients with chronic immune thrombocytopenia / I. Zotova, S. Kapustin, S. Gritsaev, N. Mineeva, S. Govrovskaya, S. Bessmeltsev, A. Chechetkin // Haematologica. – 2017. – Vol. 102 (Suppl. 2). – P. 97.

18. Melikyan A. Epidemiology of primary immune thrombocytopenia (ITP) in adults in Russian Federation (results of Registry of National Hematologic Association) / A. Melikyan, E. Pustovaya, M. Kalinina, E. Volodicheva, T. Kaporskaya, R. Iliasov, T. Babaeva, O. Bekker, V. Bogova, E. Zotina, I. Zotova, I. Kontievskiy, O. Pyatkova, I. Sokolova, N. Fedorova, I. Shestopalova, T. Kolosheinova, E. Egorova, S. Kulikov // Haematologica. – 2017. – Vol. 102 (Suppl. 2). – P. 587.

19. Зотова И.И. Первичная иммунная тромбоцитопения. Современный взгляд на патогенез и лечение (обзор литературы) / И.И. Зотова, С.В. Грицаев, С.С. Бессмельцев // Вестник гематологии. – 2017. – Т. 13, № 4. – С. 48 – 63.

20. **Зотова И.И. Патогенетическое обоснование терапии идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых / И.И. Зотова, С.В. Грицаев // Казанский медицинский журнал. – 2018. – Т. 99, № 2. – С. 279 - 286.**

21. Меликян А.Л. Эпидемиологические характеристики первичной иммунной тромбоцитопении у взрослого населения в Российской Федерации / А.Л. Меликян, Е.И. Пустовая, М.В. Калинина, Е.М. Володичева, Т.С. Капорская, Р.К. Ильясов, Т.Н. Бабаева, О.М. Беккер, В.С. Богова, Е.Н. Зотина, И.И. Зотова, И.Н. Контиевский, О.А. Пяткова, И.С. Соколова, Н.А. Федорова, И.А. Шестопалова, Т.И. Колошейнова, Е.К. Егорова, С.М. Куликов // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2017. – Т. 10, № 4. – С. 558 – 560.

22. **Зотова И.И. Аллельный полиморфизм гена *GPIIb* как фактор, ассоциированный с вероятностью развития иммунной тромбоцитопении и тяжестью геморрагического синдрома / И.И. Зотова,**

С.И. Капустин, С.В. Грицаев, Н.В. Минеева, И.И. Кробинец, Ж.Ю. Сидорова, С.С. Бессмельцев, А.В. Чечеткин // Онкогематология. – 2018. – Т. 13, № 2. – С. 93 - 99.

23. Зотова И.И. Особенности аллельного полиморфизма генов тромбоцитарных гликопротеинов у больных первичной иммунной тромбоцитопенией / И.И. Зотова, С.И. Капустин, С.В. Грицаев, П.В. Майоров, С.П. Свитина, Ж.Ю. Сидорова, И.И. Кробинец, Н.В. Минеева, С.С. Бессмельцев // Гематология и трансфузиология. – 2018. – Т. 63, № 1 (Прил. 1). – С. 70.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АП	аллельный полиморфизм
аТПО-р	агонисты рецептора тромбопоэтина
ГКС	глюкокортикостероиды
ГС	геморрагический синдром
ИТП	иммунная тромбоцитопения
КГ	контрольная группа
СЭ	спленэктомия
ТПО	тромбопоэтин
ЧВ	частота встречаемости
НРА	человеческий тромбоцитарный антиген