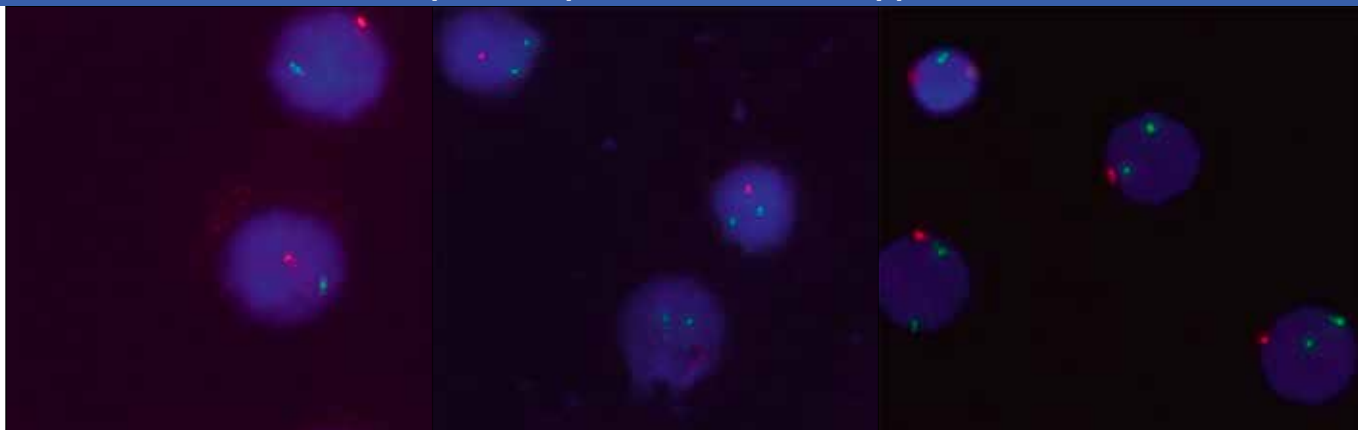


Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии

№ 2 | 20 | 2021

научно-практический журнал



Распределение сигналов при исследовании методом FISH у пациента с гиподиплоидным клоном с кариотипом 46,XX.
Из статьи Ю.В. Ольшанской и соавт., с. 97

12

Безопасность и эффективность инфузий донорских лимфоцитов памяти после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток на платформе деплеции $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов у детей с острыми лейкозами

The safety and effectiveness of donor memory T lymphocyte infusions after hematopoietic stem cell transplantation with $\alpha\beta$ T cell depletion platform in children with acute leukemia

30

Первый опыт применения локально изготовленных CAR-T-клеток у пациентов с рецидивным/рефрактерным острым лимфобластным лейкозом в Беларуси

The first experience of using locally manufactured CAR-T cells in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia in Belarus

53

Высокодозная полихимиотерапия с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у детей с неходжкинскими лимфомами

High-dose polychemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation in children with non-Hodgkin lymphomas



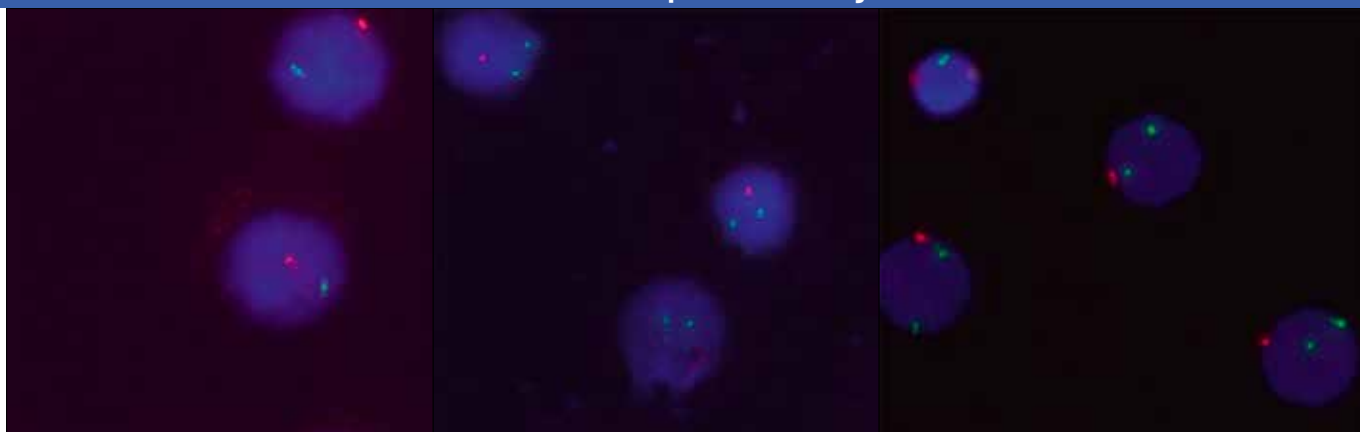
НАУКА –
ДЕТЯМ



Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology

№ 2 | 20 | 2021

scientific and practical journal



FISH signal patterns in a patient with a hypodiploid clone with a 46,XX karyotype. From the article by Yu.V. Olshanskaya et al., p. 97

12

The safety and effectiveness of donor memory T lymphocyte infusions after hematopoietic stem cell transplantation with $\alpha\beta$ T cell depletion platform in children with acute leukemia

30

The first experience of using locally manufactured CAR-T cells in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia in Belarus

53

High-dose polychemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation in children with non-Hodgkin lymphomas



НАУКА —
ДЕТЯМ



A peer-reviewed open-access journal, is published 4 times a year by the Foundation «Science – for Children Benefit» and «Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology». Printed in the Russian Federation. The electronic version of the journal is available online at www.hemoncim.com

Information for Subscribers

Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology is published 4 times a year. You may subscribe to *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* using a subscription catalogue "Newspapers, Magazines" of Rospechat Agency, subscription index – 12914.

Manuscript Submissions

Please submit your manuscript at http://www.hemoncim.com/authors_en.html. More information on manuscript submission is available at http://www.hemoncim.com/authors_en.html in corresponding sections.

Advertising

To place an advertisement or receive additional information, please contact us via e-mail: info@vind-fnkc.ru

Commercial Reprints

For commercial reprints, please contact us via e-mail: info@vind-fnkc.ru

Disclaimer

The Publisher and the Editors cannot be held responsible for errors or any consequences arising from the use of information contained in this journal. The ideas and opinions expressed do not necessarily reflect those of the Publisher and the Editors, neither does the publication of advertisements constitute any endorsement by the Publisher and Editors of the products advertised.

Indexing

The journal is indexed by *Scopus*, *Ulrich's Periodicals Directory* and *Russian Science Citation Index*.

Copyright

Copyright © 2021 by «Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» («D. Rogachev NMRCPOI»), Oncology and Immunology. All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored, translated, or transmitted in any form or by any means without the prior permission in writing from the copyright holder.

Address for correspondence

Editorial office of *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*: Samory Mashela St., 1, 117198, Moscow, Russia

For further information on rights and permissions, please contact us via e-mail: info@vind-fnkc.ru

Рецензируемый журнал с открытым доступом, издается 4 раза в год Фондом «Наука – детям» и Федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Журнал печатается в Российской Федерации. Электронная версия журнала доступна на сайте: www.hemoncim.com

Информация для подписчиков

Журнал «Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии» выходит 4 раза в год. Вы можете подписаться на журнал «Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии» по каталогу «Газеты. Журналы» агентства «Роспечать», подписной индекс – 12914.

Подача рукописей

Прислать рукопись можно по ссылке: http://www.hemoncim.com/authors_en.html Ознакомьтесь с правилами подачи рукописей можно в соответствующих разделах на сайте: http://www.hemoncim.com/authors_en.html

Размещение рекламных материалов

По вопросам размещения рекламы обращайтесь в редакцию. E-mail: info@vind-fnkc.ru

Репринт

По вопросам репринта обращайтесь в редакцию. E-mail: info@vind-fnkc.ru

Дисклеймер

Издатель и редакция не несут ответственности за ошибки или последствия использования информации, публикуемой в данном журнале. Идеи и мнения автора могут не совпадать с точкой зрения издателя и редакции. Издатель и редакция не несут ответственности за содержание и качество размещенных в журнале рекламных материалов.

Индексирование

Журнал индексируется в *Scopus*, *Ulrich's Periodicals Directory* и *Российском индексе научного цитирования*.

Авторское право

© 2021 Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России). Все авторские права сохранены. Запрещается полная или частичная репродукция, хранение, перевод или передача опубликованных материалов в любом виде или любыми средствами без письменного разрешения владельца авторских прав.

Адрес для корреспонденции

Редакция журнала «Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии»: Россия, 117198, Москва, ул. Саморы Машела, 1

Для получения более подробной информации, касающейся авторских прав и разрешений, просим связаться с нами по электронной почте: info@vind-fnkc.ru

Founders

D. Rogachev NMRCPOI
Foundation «Science – for Children Benefit».

Publisher

LLC «Science and education».
Address: Russia, 121357, Moscow, Vereyskaya st., 17-311/1

The address of the editorial office

Tel.: +7 (495) 211-04-82
www.hemoncim.com
E-mail: journal@fnkc.ru
Advertising department: +7 (495) 211-04-82

The journal is registered in the Federal Service for Monitoring Compliance with Cultural Heritage Protection Law.
Registration number is ПИ № ФС77-69056
The journal was founded in 2002.

Printing office

LLC «PRINT-M».

The circulation is 3000 copies. The price is free. 6+

Учредители

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России,
Фонд «Наука – детям».

Издатель

ООО «Наука и образование».
Адрес: 121357, Москва, ул. Верейская, д. 17, пом. 311, к. 1

Редакция журнала

Tel.: +7 (495) 211-04-82
www.hemoncim.com E-mail: journal@fnkc.ru
По вопросам рекламы: +7 (495) 211-04-82

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охраны культурного наследия.
Регистрационный номер ПИ № ФС77-69056
Журнал основан в 2002 году.

Типография

ООО «ПРИНТ-М».

Тираж 3000 экз. Цена свободная. 6+

ВОПРОСЫ ГЕМАТОЛОГИИ/ОНКОЛОГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ В ПЕДИАТРИИ

Научно-практический журнал

№ 2 | том 20 | 2021



Главный редактор

Новичкова Галина Анатольевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Заместители главного редактора

Масчан Алексей Александрович

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, Москва, Россия

Румянцев Александр Григорьевич

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Москва, Россия

Ответственный секретарь

Сметанина Наталия Сергеевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Члены редколлегии

Алейникова Ольга Витальевна

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент НАН,
Минск, Республика Беларусь

Балашов Дмитрий Николаевич

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Белогурова Маргарита Борисовна

доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия

Варфоломеева Светлана Рафаэлевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Володин Николай Николаевич

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Москва,
Россия

Демихов Валерий Григорьевич

доктор медицинских наук, профессор, Рязань, Россия

Кит Олег Иванович

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Ростов-на-Дону, Россия

Кулагин Александр Дмитриевич

доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия

Масчан Михаил Александрович

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Минков Милен

доктор медицинских наук, профессор, Вена, Австрия

Пантелеев Михаил Александрович

доктор физико-математических наук, Москва, Россия

Паровичникова Елена Николаевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Птушкин Вадим Вадимович

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Решетов Игорь Владимирович

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Москва,
Россия

Румянцев Сергей Александрович

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Москва, Россия

Трахтман Павел Евгеньевич

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Цаур Григорий Анатольевич

доктор медицинских наук, Екатеринбург, Россия

Щербина Анна Юрьевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Редакционный совет

Алексеева Е.И.

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Москва, Россия

Атауллаханов Ф.И.

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Москва, Россия

Афанасьев Б.В.

доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия

Вельте К.

профессор, Тюбинген, Германия

Виллих Н.

профессор, Мюнстер, Германия

Грачев Н.С.

доктор медицинских наук, Москва, Россия

Карачунский А.И.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Крыжановский О.И.

кандидат медицинских наук, Сан-Франциско, США

Липтон Дж.

профессор, Нью-Йорк, США

Мякова Н.В.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Накагавара А.

профессор, Чикаго, Япония

Окс Г.

профессор, Сизтл, США

Родригес-Галиндо К.

профессор, Мемфис, США

Самочатова Е.В.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Скокова Ю.В.

доктор медицинских наук, Тюбинген, Германия

Тер-Ованесов М.Д.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Фечина Л.Г.

кандидат медицинских наук, Екатеринбург, Россия

Чернов В.М.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Хамин И.Г.

кандидат медицинских наук, Москва, Россия

Хармс Д.

профессор, Киль, Германия

Хенце Г.

профессор, Берлин, Германия

Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых журналов и изданий ВАК,
в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций
на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук



Editor-in-Chief

Galina A. Novichkova
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Deputy Editors-in-Chief

Alexey A. Maschan
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Moscow, Russian Federation

Alexander G. Rumyantsev
MD, DSc, Professor, Academician of the RAS, Moscow, Russian Federation

Executive Secretary

Nataliya S. Smetanina
MD, PhD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Members of the Editorial Board

Olga V. Aleynikova
MD, Corresponding Member of the NAS, Minsk, Republic of Belarus

Dmitry N. Balashov
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Margarita B. Belogurova
MD, DSc, Professor, Saint Petersburg, Russian Federation

Svetlana R. Varfolomeeva
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Nikolay N. Volodin
MD, DSc, Professor, Academician of the RAS, Moscow, Russian Federation

Valeriy G. Demikhov
MD, DSc, Professor, Ryazan, Russian Federation

Oleg I. Kit
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Rostov-on-Don, Russian Federation

Alexander D. Kulagin
MD, DSc, Professor, Saint Petersburg, Russian Federation

Mikhail A. Maschan
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Mylen Minkov
MD, DSc, Professor, Vienna, Austria

Mikhail A. Panteleev
PhD, DSc, Moscow, Russian Federation

Elene N. Parovichnikova
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Vadim V. Ptushkin
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Igor V. Reshetov
MD, DSc, Professor, Academician of the RAS, Moscow, Russian Federation

Sergey A. Rumyantsev
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Moscow, Russian Federation

Pavel E. Trakhtman
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Grigory A. Tzaur
MD, PhD, DSc, Ekaterinburg, Russian Federation

Anna Yu. Shcherbina
MD, PhD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Advisory Editors

Alekseeva E.I.
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Moscow, Russia

Ataullakhanov F.I.
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Moscow, Russia

Afanasyev B.V.
MD, DSc, Professor, Saint Petersburg, Russia

Welte K.
Professor, Tübingen, Germany

Willich N.
Professor, Münster, Germany

Grachev N.S.
MD, DSc, Moscow, Russia

Karachunskiy A.I.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Kryzhanovsky O.I.
MD, San Francisco, USA

Lipton J.
Professor, New York, USA

Myakova N.V.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Nakagawara A.
Professor, Chiba, Japan

Ochs H.
Professor, Seattle, USA

Rodriguez-Galindo C.
Professor, Memphis, USA

Samochatova E.V.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Skokova Yu.V.
MD, DSc, Tübingen, Germany

Ter-Ovanesov M.D.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Fechina L.G.
MD, PhD, Yekaterinburg, Russia

Khamin I.G.
MD, Moscow, Russia

Harms D.
Professor, Kiel, Germany

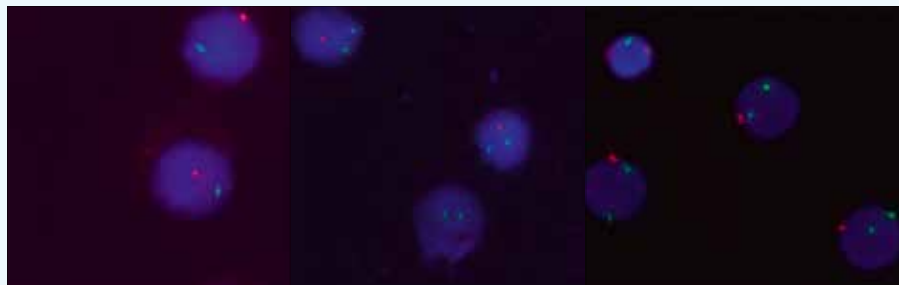
Henze G.
Professor, Berlin, Germany

Chernov V.M.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Содержание

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 2021, 20 (2)

Оформление обложки:



Распределение сигналов при исследовании методом FISH у пациента с гиподиплоидным клоном с кариотипом 46,XX

Из статьи Ю.В. Ольшанской и соавт. (с. 97)

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

- Безопасность и эффективность инфузий донорских лимфоцитов памяти после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток на платформе деpleции $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов у детей с острыми лейкозами** 12
 Дунайкина М.А., Шелихова Л.Н., Шеховцова Ж.Б., Глушкова С.Ю., Николаев Р.В., Благоев С.П., Хисматуллина Р.Д., Балашов Д.Н., Скворцова Ю.В., Курникова Е.Е., Першин Д.Е., Зубаченко В.А., Музалевский Я.О., Казаченок А.С., Осипова Е.Ю., Масчан М.А.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Первый опыт применения локально изготовленных CAR-T-клеток у пациентов с рецидивным/рефрактерным острым лимфобластным лейкозом в Беларуси** 30
 Алейникова О.В., Мигас А.А., Столярова Е.А., Пунько А.В., Мовчан Л.В., Клыч А.В., Мишкова О.А., Гиль А.В., Мелешко А.Н., Конопля Н.Е.
- Результаты применения кондиционирования с треоосульфатом перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с анемией Даймонда–Блекфена** 40
 Радыгина С.А., Козловская С.Н., Васильева А.П., Шипицына И.П., Богоявленская А.А., Овсянникова Г.С., Шелихова Л.Н., Скворцова Ю.В., Балашов Д.Н., Масчан М.А.
- Оценка состояния здоровья пациентов с аутосомно-рецессивной формой остеопетроза до и после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток** 46
 Буря А.Е., Мачнева Е.Б., Мельникова М.Б., Скоробогатова Е.В.
- Высокодозная полихимиотерапия с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у детей с неходжкинскими лимфомами** 53
 Козлов А.В., Казанцев И.В., Юхта Т.В., Толкунова П.С., Геворгян А.Г., Николаев И.Ю., Галибин А.Н., Богданова О.И., Звягинцева Д.А., Голенкова М.С., Юдинцева О.С., Свиридова У.В., Швецов А.Н., Байков В.В., Бабенко Е.В., Эстрина М.А., Пунанов Ю.А., Морозова Е.В., Кулагин А.Д., Михайлова Н.Б., Зубаровская Л.С.
- Особенности фенотипа тромбоцитов у детей с ANKRD26- ассоциированной тромбоцитопенией** 65
 Полохов Д.М., Федорова Д.В., Пшонкин А.В., Игнатова А.А., Пономаренко Е.А., Алексенко М.Ю., Мерсиянова И.В., Серегина Е.А., К.А. Воронин, Полетаев А.В., Райкина Е.В., Пантелеев М.А., Жарков П.А.

- Синдром Фишера–Эванса у детей: результаты ретроспективного исследования данных 54 пациентов** 74
Кузьминова Ж.А., Пшонкин А.В., Райкина Е.В., Павлова А.В., Курникова М.А., Мерсиянова И.В., Сунцова Е.В., Швеиц О.А., Мухина А.А., Кузьменко Н.Б., Щербина А.Ю., Масчан А.А., Сметанина Н.С.

- Несфероцитарная гемолитическая анемия, вызванная дефицитом пируваткиназы эритроцитов: анализ генных нарушений пациентов детского возраста в Российской Федерации** 84
Черняк Е.А., Соколова Н.Е., Семиглазова К.В., Лаврентьева И.Н., Донюш Е.К., Плаксина О.И., Борисова М.В., Данилюк Н.А., Митрофанова Е.С., Батурская И.П., Ревина Н.Г., Бурлуцкая Т.И., Раков М.А., Евстратов А.В., Целоусова О.М., Лебедев В.В., Чаплыгина Н.В., Корякина И.В., Осмульская Н.С., Афанасьева Е.И., Никонова О.Е., Соколова Л.И., Цыденешеева Е.Х., Юнусова И.М., Зауралов Е.О., Осипова И.В., Асланян К.С., Сипачёва Е.В., Болдырева О.П., Казарян Г.Р., Башарова Е.В., Манн С.Г., Курникова М.А., Райкина Е.В., Сметанина Н.С.

- Гиподиплоидный кариотип при острых лимфобластных лейкозах из В-линейных предшественников у детей** 97
Ольшанская Ю.В., Солдаткина О.И., Никитин Е.Н., Тимофеева Н.М., Казакова А.Н., Быданов О.И., Жарикова Л.И., Попов А.М., Червова А.А., Лагойко С.Н., Зеркаленкова Е.А., Румянцева Ю.В., Карачунский А.И.

- Клинико-морфологические характеристики нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием у детей. Опыт одного Центра** 111
Сенченко М.А., Абрамов Д.С., Насирдинова Г.А., Волчков Е.В., Коновалов Д.М., Мякова Н.В.

- Результаты мультицентрового лечения атипичной тератоид-рабдоидной опухоли центральной нервной системы у детей до 3 лет** 121
Ольхова Л.В., Желудкова О.Г., Зубаровская Л.С., Смирнова А.Ю., Диникина Ю.В., Кушель Ю.В., Меликян А.Г., Горелышев С.К., Рыжова М.В., Трунин Ю.Ю., Шульц Е.И., Геворгян А.Г., Горбатов С.В., Кисляков А.Н., Попов В.Е., Привалова Л.П., Юдина Н.Б., Тарасова Е.М., Погорелов Д.Н., Полушкина О.Б., Левашов А.С., Воробьев Н.А., Плахотина Н.А., Мартынова Н.И., Скворцова Т.Ю., Зайчиков А.Н., Мушинская М.В., Сакун Д.Л., Минкина Л.М., Лукина Т.В., Щепкина Е.В., Коршунов А.Г.

- БЦЖ-ассоциированные осложнения у пациентов с первичными иммунодефицитами после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток** 133
Мачнева Е.Б., Мезенцева А.В., Ольхова Л.В., Пристанскова Е.А., Буря А.Е., Константинова В.В., Филина О.А., Николаева Ю.А., Светачева А.А., Благонравова О.Л., Киргизов К.И., Скоробогатова Е.В.

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

- ЦНС-рецидив В-лимфобластной лимфомы после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: терапия донорскими CD19-специфичными CAR-T-лимфоцитами** 143
Молостова О.О., Шелихова Л.Н., Першин Д.Е., Попов А.М., Дубровина М.Э., Климентова М.А., Масчан А.А., Масчан М.А.

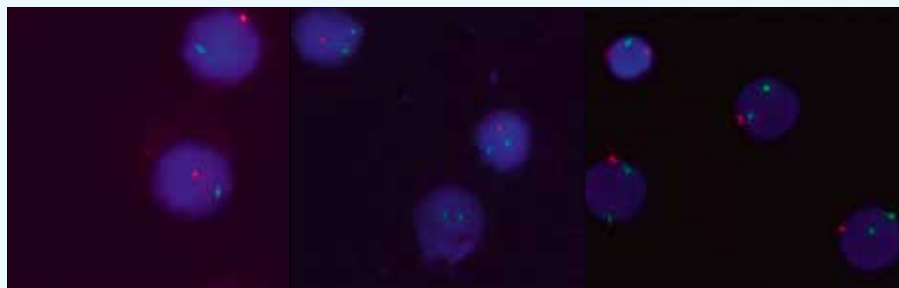
ШКОЛА ИММУНОЛОГА – МНЕНИЕ ЭКСПЕРТА

- Длительный устойчивый смешанный химеризм у пациента с синдромом Вискотта–Олдрича после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток** 148
Блудова В.О., Лаберко А.Л., Родина Ю.А., Бриллиантова В.В., Райкина Е.В., Хорева А.Л., Першин Д.Е., Терещенко Г.В., Щербина А.Ю.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

- Современная терапия инфантильных гемангиом** 156
Хачатрян Л.А., Николаева Д.М.

Cover design:



FISH signal patterns in a patient with a hypodiploid clone with a 46,XX karyotype

From the article by
Yu.V. Olshanskaya et al.
(p. 97)

ADVANCED RESEARCH

- The safety and effectiveness of donor memory T lymphocyte infusions after hematopoietic stem cell transplantation with $\alpha\beta$ T cell depletion platform in children with acute leukemia** 12
- Dunaykina M.A., Shelikhova L.N., Shekhovtsova Zh.B., Glushkova S.Yu., Nikolayev R.V., Blagov S.L., Khismatullina R.D., Balashov D.N., Skvortsova Yu.V., Kurnikova E.E., Pershin D.E., Zubachenko V.A., Muzalevsky Ya.O., Kazachyonok A.S., Osipova E.Yu., Maschan M.A.

ORIGINAL ARTICLE

- The first experience of using locally manufactured CAR-T cells in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia in Belarus** 30
- Aleinikova O.V., Migas A.A., Stolyarova E.A., Punko A.V., Movchan L.V., Klych A.V., Mishkova O.A., Hill A.V., Meleshko A.N., Konoplya N.E.
- Treosulfan-based conditioning for hematopoietic stem cell transplantation in patients with Diamond–Blackfan anemia** 40
- Radygina S.A., Kozlovskaya S.N., Vasilieva A.P., Shipitsina I.P., Bogoyavlenskaya A.A., Ovsyannikova G.S., Shelikhova L.N., Skvortsova Yu.V., Balashov D.N., Maschan M.A.
- Health assessment in patients with autosomal recessive osteopetrosis before and after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation** 46
- Burya A.E., Machneva E.B., Melnikova M.B., Skorobogatova E.V.
- High-dose polychemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation in children with non-Hodgkin lymphomas** 53
- Kozlov A.V., Kazantsev I.V., Yukhta T.V., Tolkunova P.S., Gevorgyan A.G., Nikolayev I.Yu., Galibin A.N., Bogdanova O.I., Zvyagintseva D.A., Golenkova M.S., Yudinseva O.S., Sviridova U.V., Shvetsov A.N., Baykov V.V., Babenko E.V., Estrina M.A., Punanov Yu.A., Morozova E.V., Kulagin A.D., Mikhaylova N.B., Zubarovskaya L.S.
- Platelet phenotype in children with ANKRD26-related thrombocytopenia** 65
- Polokhov D.M., Fedorova D.V., Pshonkin A.V., Ignatova A.A., Ponomarenko E.A., Aleksenko M.Yu., Mersiyanova I.V., Seregina E.A., Voronin K.A., Poletaev A.V., Raykina E.V., Panteleev M.A., Zharkov P.A.
- Evans Syndrome in children: the results of a retrospective study of 54 patients** 74
- Kuzminova Z.A., Pshonkin A.V., Raikina E.V., Pavlova A.V., Kurnikova M.A., Mersiyanova I.V., Suntsova E.V., Shvets O.A., Mukhina A.A., Kuzmenko N.B., Shcherbina A.Yu., Maschan A.A., Smetanina N.S.

Non-spherocytic hemolytic anemia caused by erythrocyte pyruvate kinase deficiency: the analysis of genetic defects in pediatric patients, living in Russian Federation	84
Cherniak E.A., Sokolova N.E., Semiglazova K.V., Lavrentyeva I.N., Donush E.K., Plaksina O.I., Borisova M.V., Danilyuk N.A., Mitrofanova E.S., Baturskaya I.P., Revina N.G., Burlutskaya T.I., Rakov M.A., Evstratov A.V., Tselousova O.M., Lebedev V.V., Chaplygina N.V., Koryakina I.V., Osmulskaya N.S., Afanasyeva E.I., Nikonova O.E., Sokolova L.I., Tsedenisheeva E.Kh., Yunusova I.M., Zauralov E.O., Osipova I.V., Aslanyan K.S., Sipacheva E.V., Boldyreva O.P., Kazaryan G.R., Basharova E.V., Mann S.G., Kurnikova M.A., Raikina E.V., Smetanina N.S.	
A hypodiploid karyotype in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia	97
Olshanskaya Yu.V., Soldatkina O.I., Nikitin E.N., Timofeyeva N.M., Kazakova A.N., Bydanov O.I., Zharikova L.I., Popov A.M., Chervova A.A., Lagoyko S.N., Zerkalenkova E.A., Romyantseva Yu.V., Karachunskiy A.I.	
Nodular lymphocyte-predominant Hodgkin Lymphoma in children. Retrospective clinical and morphological analysis of the patients. One Center experience	111
Senchenko M.A., Abramov D.S., Nasirdinova G.A., Volchkov E.V., Konovalov D.M., Myakova N.V.	
The results of multicenter treatment of atypical teratoid/rhabdoid tumors of the central nervous system in children under 3 years	121
Olkhova L.V., Zheludkova O.G., Zubarovskaya L.S., Smirnova A.Yu., Dinikina Yu.V., Kushel Yu.V., Melikyan A.G., Gorelyshev S.K., Ryzhova M.V., Trunin Yu.Yu., Shults E.I., Gevorgyan A.G., Gorbatykh S.V., Kislyakov A.N., Popov V.E., Privalova L.P., Yudina N.B., Tarasova E.M., Pogorelov D.N., Polushkina O.B., Levashov A.S., Vorobyov N.A., Plakhotina N.A., Martynova N.I., Skvortsova T.Yu., Zaychikov A.N., Mushinskaya M.V., Sakun D.L., Minkina L.M., Lukina T.V., Shchepkina E.V., Korshunov A.G.	
BCG vaccine-related complications in patients with primary immunodeficiencies after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	133
Machneva E.B., Mezentsseva A.V., Olkhova L.V., Pristanskova E.A., Burya A.E., Konstantinova V.V., Filina O.A., Nikolayeva Yu.A., Svetacheva A.A., Blagonravova O.L., Kirgizov K.I., Skorobogatova E.V.	

CLINICAL OBSERVATION

CNS relapse of B-lymphoblastic lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: therapy with donor CD19-specific CAR-T cells	143
Molostova O.O., Shelikhova L.N., Pershin D.E., Popov A.M., Dubrovina M.E., Klimentova M.A., Maschan A.A., Maschan M.A.	

SCHOOL OF IMMUNOLOGY – EXPERT OPINION

Long-term persistent mixed chimerism in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	148
Bludova V.O., Laberko A.L., Rodina Yu.A., Brilliantova V.V., Raykina E.V., Khoreva A.L., Pershin D.E., Tereshchenko G.V., Shcherbina A.Yu.	

LITERATURE REVIEW

Modern treatment of infantile hemangioma	156
Khachatryan L.A., Nikolaeva D.M.	

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 23.03.2021
Принята к печати 13.04.2021

10.24287/1726-1708-2021-20-2-12-28

Безопасность и эффективность инфузий донорских лимфоцитов памяти после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток на платформе деплеции $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов у детей с острыми лейкозами

М.А. Дунайкина, Л.Н. Шелихова, Ж.Б. Шеховцова, С.Ю. Глушкова, Р.В. Николаев, С.Л. Благов, Р.Д. Хисматуллина, Д.Н. Балашов, Ю.В. Скворцова, Е.Е. Курникова, Д.Е. Першин, В.А. Зубаченко, Я.О. Музалевский, А.С. Казаченок, Е.Ю. Осипова, М.А. Масчан

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Масчан Михаил Александрович,
д-р мед. наук, заместитель генерального
директора – директор Института
молекулярной и экспериментальной
медицины ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: Michael.Maschan@fcocho-moscow.ru

Деплеция $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов предотвращает реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ), не нарушает приживление трансплантата и улучшает исходы трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от гаплоидентичных доноров. Инфузии Т-лимфоцитов памяти (CD45RA-деплементированных) способны переносить функциональный иммунитет к распространенным патогенам. В рандомизированном исследовании мы изучили безопасность и эффективность инфузии донорских лимфоцитов (ИДЛ) памяти у детей с лейкозом после ТГСК на платформе $\alpha\beta$ -Т-деплеции. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В исследование включены 149 пациентов, 76 рандомизированы в группу ИДЛ, 73 – в контрольную группу. Доноры были гаплоидентичными родственными в 91% случаев. Миелоаблативное кондиционирование включало треоосульфат или тотальное облучение тела (TOT). Антигемоцититарный глобулин (АТГ) был исключен из состава кондиционирования, вместо него применяли комбинацию абатацепта и тоцилизумаба. Процессинг трансплантата включал TCR $\alpha\beta$ /CD19-деплецию. Основными параметрами оценки были кумулятивный риск детекции ДНК цитомегаловируса (ЦМВ) и кумулятивный риск РТПХ II–IV стадии. Дополнительными параметрами оценки являлись кумулятивный риск трансплантационной смертности, кумулятивный риск рецидива, общая и бессобытийная выживаемость, а также показатели восстановления иммунной системы. Группа исторического контроля была использована для сравнения основных исходов ТГСК при применении АТГ и альтернативной схемы иммуномодуляции (абатацепт и тоцилизумаб). Кумулятивный риск РТПХ II–IV стадии составил 14% в экспериментальной группе и 12% в контрольной группе ($p = 0,8$). Кумулятивный риск ЦМВ-виремии составил 45% в экспериментальной группе и 55% в контрольной группе ($p = 0,4$). В исследуемой когорте трансплантационная смертность, кумулятивный риск рецидива и общая выживаемость составили 2%, 25% и 80% соответственно без статистически достоверных различий между рукавами исследования. Выявлен тренд к увеличению доли пациентов, сформировавших иммунный ответ к ЦМВ на ранних сроках после ТГСК в экспериментальной группе. Замена АТГ на тоцилизумаб и абатацепт не сопровождалась повышением частоты РТПХ и недостаточности трансплантата и была ассоциирована с достоверным снижением трансплантационной смертности (2% против 13%, $p = 0,002$) и улучшением показателей восстановления иммунной системы на ранних сроках после ТГСК. Профилактические инфузии донорских лимфоцитов памяти безопасны и могут быть использованы для дальнейшей оптимизации результатов ТГСК на платформе $\alpha\beta$ -Т-деплеции.

Ключевые слова: реакция «трансплантат против хозяина», трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, деплеция $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов, инфузия донорских лимфоцитов

Дунайкина М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 12–28. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-12-28

The safety and effectiveness of donor memory T lymphocyte infusions after hematopoietic stem cell transplantation with $\alpha\beta$ T cell depletion platform in children with acute leukemia

M.A. Dunaykina, L.N. Shelikhova, Zh.B. Shekhovtsova, S.Yu. Glushkova, R.V. Nikolayev, S.L. Blagov, R.D. Khismatullina, D.N. Balashov, Yu.V. Skvortsova, E.E. Kurnikova, D.E. Pershin, V.A. Zubachenko, Ya.O. Muzalevsky, A.S. Kazachyonok, E.Yu. Osipova, M.A. Maschan

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 23.03.2021

Accepted 13.04.2021

T-cell $\alpha\beta$ depletion prevents "graft-versus-host" disease (GVHD), does not impair engraftment, and improves the outcomes of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) from a haploidentical donor. Memory T lymphocyte infusions (CD45RA-depleted) can transfer functional immunity to common pathogens to recipients. In a randomized study, we explored the safety and effectiveness of donor memory T lymphocyte infusions (DLI) in children with leukemia after HSCT with $\alpha\beta$ T cell depletion platform. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. A total of 149 patients were enrolled in the study; 76 patients were randomly assigned to the DLI group and 73 patients were allocated to the control group. Donors were haploidentical related in 91% of cases. The myeloablative conditioning regimen included treosulfan and total body irradiation. Anti-thymocyte globulin (ATG) was excluded from the conditioning regimen, instead, we used a combination of abatacept and tocilizumab. Graft processing involved TCR $\alpha\beta$ -/CD19-depletion. The main parameters of assessment included the cumulative risk of detection of cytomegalovirus (CMV) DNA and the cumulative risk of grade II–IV GVHD. The additional parameters of assessment were the cumulative risk of transplant-related mortality, the cumulative risk of relapse, the overall and event-free survival rates, and the parameters of immune recovery. A historical control group was used to compare the primary outcomes of HSCT with ATG and an alternative immunomodulatory regimen (abatacept and tocilizumab). The cumulative risk of grade II–IV GVHD was 14% in the experimental group and 12% in the control group ($p = 0.8$). The cumulative risk of CMV viremia was 45% and 55% in the experimental and control groups, respectively ($p = 0.4$). In the prospective cohort, the rates of transplant-related mortality, the cumulative risk of relapse, and the overall survival were 2%, 25%, and 80%, respectively, without statistical difference between the arms. In the experimental group, we noticed a tendency toward an increase in the proportion of patients who developed an immune response to CMV in the early post-HSCT period. The substitution of ATG with tocilizumab and abatacept was not accompanied by a higher incidence of GVHD or graft failure; it was associated with significantly lower transplant-related mortality rates (2% vs 13%, $p = 0.002$) and improved immune recovery in the early post-HSCT period. Prophylactic infusions of donor memory lymphocytes are safe and may be used for further improvement in the results of HSCT with $\alpha\beta$ T cell depletion platform.

Key words: "graft-versus-host" disease, hematopoietic stem cell transplantation, T cell $\alpha\beta$ depletion, donor lymphocyte infusion

Dunaykina M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 12–28.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-12-28

Деплеция $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов является новым методом обработки трансплантата, который все чаще используется в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у детей при ТГСК от гаплоидентичных и совместимых доноров [1–7]. Этот тип обработки трансплантата обеспечивает быстрое приживление, низкую частоту клинически значимой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и достаточную противоопухолевую активность. Несмотря на минимальную фармакологическую иммуносупрессию после приживления трансплантата, восстановление адаптивного иммунитета в течение первых месяцев после ТГСК задерживается и основано на олигоклональной экспансии небольшого количества клонов Т-клеток, перенесенных в составе первичного трансплантата [8]. Мы предложили использовать низкую дозу донорских лимфоцитов памяти (CD45RA-деплементированных) для улучшения восстановления патоген-специфического иммунитета после $\alpha\beta$ -Т-деплементированной ТГСК и показали, что эти инфузии безопасны и эффективно переносят функциональный и стойкий вирус-специфический иммунный ответ [9]. Из-за типичной кинетики ранней реактивации цитомегаловируса (ЦМВ) инфузии донорских лимфоцитов (ИДЛ) памяти после приживления не способны предотвратить ЦМВ-виремию. Для непосредственного исследования безопасности и эффективности ИДЛ памяти мы инициировали

проспективное рандомизированное одноцентровое клиническое исследование и представим в настоящей работе окончательный анализ основных конечных точек. Для оценки эффективности ИДЛ памяти в формате ко-инфузии с первичным трансплантатом мы разработали специальный протокол кондиционирования и профилактики РТПХ, отказались от использования поликлональной серотерапии антилимфоцитарным глобулином (АТГ), который является стандартным компонентом большинства протоколов ТГСК с $\alpha\beta$ -Т-деплецией. Чрезвычайная вариабельность фармакокинетики АТГ в противном случае создала бы неравные условия для ограниченного количества перенесенных донорских Т-клеток памяти и исключила бы адекватную оценку основных конечных точек. Для целей этого исследования на основе нашего предыдущего опыта и опубликованных данных кроликов АТГ был заменен на комбинацию антагониста интерлейкина-6 (тоцилизумаб) и блокатора ко-стимуляторного взаимодействия CD28-CD80/86 (абатацепт) [10–12]. Мы представим дополнительный анализ раннего восстановления иммунитета и ключевых клинических исходов в когорте проспективного исследования в сравнении с недавней исторической когортой пациентов, которые были трансплантированы со стандартным кроличьим АТГ в составе идентичного режима ТГСК.

Correspondence:

Michael A. Maschan,
dr. med. sci., Deputy Director General –
Director of the Institute of Molecular
and Experimental Medicine, Dmitry
Rogachev National Medical Research
Center of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: Michael.Maschan@fccho-moscow.ru

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение периода исследования, с сентября 2016 г. по август 2019 г., 174 ребенка с гематологическими злокачественными новообразованиями высокого риска и установленными показаниями к

ТГСК были проверены, 149 вошли в исследование на основе predetermined критериев включения. Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) высокого риска и острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) составили 85% показаний к ТГСК. Подробные характеристики когорты представлены в *таблице 1*. Режимы кондиционирования были интенсивными – на основе

Таблица 1

Характеристики когорты (пациенты, доноры, состав трансплантата, режимы кондиционирования, режимы профилактики РТПХ)

Table 1

The characteristics of the cohort (patients, donors, composition of the graft, conditioning regimens, GVHD prophylaxis)

Переменная Variable	ИДЛ+ (экспериментальная группа; n = 76) DLI+ (experimental group; n = 76)	ИДЛ- (контрольная группа; n = 73) DLI- (control group; n = 73)	p-критерий p-value	Проспективная когорта (АТГ-; n = 149) Prospective cohort (ATG-; n = 149)	Исторический контроль (АТГ+; n = 108) Historical control (ATG+; n = 108)	p-критерий p-value
1	2	3	4	5	6	7
Возраст пациентов, годы, медиана (диапазон) Patient age, years, median (range)	8,6 (0,5–18)	8,6 (0,7–18)	0,90	8,6 (0,5–18)	9,1 (0,4–21,4)	0,80
Пол пациентов, мужской:женский Patient gender, male:female	1,5:1	1,5:1	0,90	1,5:1	1,4:1	0,79
ЦМВ IgG пациентов перед ТГСК, n (%): Anti-CMV-IgG in the patients before HSCT, n (%):						
IgG+	57 (75)	56 (77)		113 (76)	78 (72)	
IgG-	17 (22)	16 (22)	0,80	33 (22)	30 (28)	0,21
IgG неизвестен IgG unknown	2 (3)	1 (1)		3 (2)	0	
Диагноз Diagnosis						
Острый лейкоз, n (%) Acute leukemia, n (%)	71 (93)	65 (89)	0,34	136 (91)	99 (92)	0,90
ОМЛ CR, n (%) AML CR, n (%)	17 (22)	9 (12)	0,10	26 (17)	47 (44)	< 0,0001
ОМЛ AD, n (%) AML AD, n (%)	5 (6,5)	4 (5)	ns	9 (6)	9 (8)	0,48
ОЛЛ, n (%) ALL, n (%)	43 (55)	48 (67)	0,14	91 (61)	40 (37)	0,00024
ОЛЛ МОБ+, n (%) ALL MRD+, n (%)	11 (26)	7 (15)	0,18	72 (78)	18 (67)*	0,19
ОЛЛ МОБ-, n (%) ALL MRD-, n (%)	32 (74)	41 (85)		19 (22)	9 (33)*	
ОЛЛ МОБ неизвестна, n (%) ALL MRD unknown, n (%)	0	0		0	13 (33)**	
Другие злокачественные заболевания [#] , n (%) Other malignancies [#] , n (%)	12 (16)	11 (15)	0,90	23 (15)	12 (8)	0,09
ТГСК 1, n (%) HSCT 1, n (%)	76 (100)	73 (100)	1,00	149 (100)	96 (89)	< 0,0001
Кондиционирование и профилактика РТПХ Conditioning and GVHD prophylaxis						
TOT, n (%) TBI, n (%)	36 (47)	48 (66)	0,024	84 (56)	27 (25)	< 0,0001
Треосульфат, n (%) Treosulfan, n (%)	40 (53)	25 (34)	0,024	65 (44)	81 (75)	< 0,0001
ОЛЛ с TOT, n (%) ALL with TBI, n (%)	29 (38)	40 (55)	0,30	69 (46)	25 (23)	< 0,0001
Бортезомиб, n (%) Bortezomib, n (%)	71 (93)	64 (87)	0,30	135 (91)	100 (93)	0,66
Кроличий АТГ, n (%) Rabbit ATG, n (%)	0 (0)	0 (0)		0 (0)	108 (100)	< 0,0001
Абатацепт и тоцилизумаб, n (%) Abatacept and tocilizumab, n (%)	76 (100)	73 (100)	1	149 (100)	0	< 0,0001
Доноры Donors						
Возраст, годы, медиана (диапазон) Age, years, median (range)	34 (7–52)	35 (17–51)	0,70	34 (7–52)	31 (2–55)	0,001
ЦМВ IgG+, n (%) CMV IgG+, n (%)	76 (100)	73 (100)	1,00	149 (100)	95 (88)	< 0,0001
Гаплоидентичные, n (%) Haploidentical, n (%)	69 (91)	68 (93)	0,60	137 (92)	78 (72)	< 0,0001

1	2	3	4	5	6	7
Совместимые неродственные, n (%) Matched unrelated, n (%)	6 (8)	2 (3)	0,16	8 (5)	28 (26)	< 0,0001
Совместимые родственные, n (%) Matched related, n (%)	1 (1)	3 (4)	0,30	5 (3)	2 (2)	0,80
Трансплантат Graft						
CD34, × 10 ⁶ /кг CD34, × 10 ⁶ /kg	9 (4–14)	9 (4–15)	0,90	9 (4–15)	8 (3–17)	0,30
αβ-T-лимфоциты, × 10 ³ /кг αβ-T cells, × 10 ³ /kg	28 (0,9–361)	32 (2–103)	0,048	29 (0,9–361)	13,9 (0,2–264)	0,004
ИДЛ памяти после приживления DLI after engraftment	64 (84)	9 (12)	< 0,0001	73 (49)	75 (69)	0,001
Время наблюдения, годы, медиана (диапазон) Follow-up time, years, median (range)	2 (0,7–3,5)	1,9 (0,6–3,4)	0,15	2 (0,6–3,5)	4,6 (2,7–6,2)	< 0,0001

Примечание. * – % от пациентов с известной минимальной остаточной болезнью (МОБ); ** – % от пациентов с ОЛЛ; AD – active disease – отсутствие морфологической ремиссии на момент начала кондиционирования; # – неходжкинские лимфомы (n = 11), острый билинейный лейкоз (n = 7) (включен в группу острых лейкозов), миелодиспластический синдром (n = 1), хронический эозинофильный лейкоз (n = 1).

Notes. GVHD – “graft-versus-host” disease; * – % of all patients with MRD; ** – % of all patients with ALL; AML – acute myeloid leukemia; ALL – acute lymphoblastic leukemia; MRD – minimal residual disease; HSCt – hematopoietic stem cell transplantation; TBI – total body irradiation; ATG – antithymocyte globulin; CMV – cytomegalovirus; DLI – donor memory T lymphocyte infusion; AD – active disease – the lack of morphologic remission at the start of conditioning; # – non-Hodgkin lymphomas (n = 11), acute bilineal leukemia (n = 7) (included in the acute leukemia group), myelodysplastic syndrome (n = 1), chronic eosinophilic leukemia (n = 1).

фракционированного TOT в суммарной дозе 12 Гр (n = 84) или треоосульфана в тотальной дозе 42 г/м² (n = 65). Пациенты получали также тиотепу в дозе 10 мг/кг и флударабин в дозе 150 мг/м². Стандартный кроличий АТГ был исключен из состава кондиционирования. Фармакологическая профилактика РТПХ включала тоцилизумаб внутривенно (в/в) в дозе 8 мг/кг (максимум 800 мг) в день –1, абатацепт в/в в дозе 10 мг/кг в дни –1, +7, +14 и +28 от ТГСК, бортезомиб в дозе 1,3 мг/м² в дни –5, –2, +2 и +5 и ритуксимаб в дозе 100 мг/м² в день –1. Среди 149 доноров 137 (92%) были представлены гаплоидентичными родителями и 12 – совместимыми неродственными или родственными донорами. Для подготовки трансплантата гемопоэтических стволовых клеток и донорских лимфоцитов памяти доноры были мобилизованы гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (и плериксафором в 49 случаях). Аферез мононуклеарной фракции периферической крови был выполнен с целевым сбором 10 × 10⁶ CD34⁺ клеток/кг массы тела реципиента. Продукт афереза был разделен на 2 части: 9/10 афереза была подвергнута иммуномагнитной деплеции αβ-T-клеток и CD19⁺ B-клеток; 1/10 афереза – иммуномагнитной деплеции CD45RA⁺ фракции. Гемопоэтический трансплантат был перелит реципиенту в день 0 и содержал медиану 9 (4–15) × 10⁶ CD34⁺-клеток/кг и 29 (9–361) × 10³ αβ-T-клеток/кг.

Рандомизация и распределение лечения

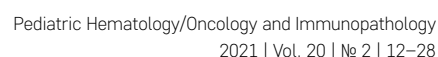
После включения в исследование больные были рандомизированы в 2 группы в соотношении 1:1 в соответствии с генератором случайных чисел, пациенты в экспериментальной группе получали ИДЛ памяти в день 0 в дозе 25 × 10³/кг по CD3 (CD45RO) и ежемесячные ИДЛ памяти в дни +30, +60, +90 и +120 в дозе 50 × 10³/кг CD3 (CD45RO) клеток/кг. Группа контроля получала стандартную поддерживающую

терапию. Пациентам с очень высоким риском рецидива или с плохим контролем оппортунистической инфекции разрешалось получать ИДЛ памяти после приживления трансплантата по усмотрению лечащего врача, независимо от рандомизации. Семьдесят шесть пациентов были рандомизированы в экспериментальный рукав и 73 – в контрольный рукав. Все пациенты в экспериментальной группе получили ИДЛ памяти на день 0, запланированные ИДЛ памяти после приживления были пропущены в 29 случаях, медианное число ИДЛ памяти составило 4 (1–5). В контрольной группе 9 пациентов получили ИДЛ памяти после приживления из-за высокой опухолевой массы перед ТГСК (n = 6) или плохого контроля инфекции (n = 3). Диаграмма consort представляет распределение пациентов в группах (рисунок 1А). Общий дизайн исследования отображен на рисунке 1Б.

Контроль вирусных инфекций осуществлялся на основе упреждающей стратегии, как описано ранее [9, 13]. ДНК ЦМВ, вируса Эпштейна–Барр (ЭБВ), вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6) и аденовируса (АДВ) еженедельно отслеживались при помощи количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в плазме до 120-го дня. Обнаружение 500 копий генома ЦМВ в 1 мл было триггером для упреждающей терапии с помощью ганцикловира или фоскавира до 2 последовательных отрицательных тестов. При обнаружении ЦМВ-виремии все пациенты проходили систематическое офтальмологическое обследование с флуоресцеином для выявления признаков ретинита. При выявлении ЭБВ-виремии более 10 000 копий/мл в течение более 2 нед проводилась терапия ритуксимабом. АДВ лечили цидофовиrom при выявлении любого уровня ДНК данной инфекции в плазме или клинически манифестная АДВ-инфекция была подтверждена с помощью ПЦР или иммуногистохимического исследования в соответстви-

А – диаграмма consort;
Б – общий дизайн рандомизированного исследования и сравнение с исторической контрольной группой

A – consort flow diagram;
B – general design of the
randomized study and
comparison with a historical
control group



ющем субстрате. Вирусная болезнь определялась как признаки или симптомы инфекции, подтвержденные методом ПЦР или иммуногистохимически в ткани субстрата. Мониторинг основных субпопуляций лимфоцитов проводился с помощью проточной цитометрии, а оценка патоген-специфичных иммунных реакций – методом ИФН- γ ELISPOT.

В качестве первичных конечных точек проспективного рандомизированного исследования были выбраны кумулятивный риск (CI) острой РТПХ II–IV стадии, классификация в соответствии с критериями Сизтла и CI ЦМВ-виремии, для обеих конечных точек время наблюдения ограничено днем +150 после ТГСК. Диагноз РТПХ был гистологически верифицирован и стадирован в соответствии со стандартными рекомендациями [14, 15]. В качестве вторичных конечных точек были выбраны: доля пациентов с восстановлением вирус-специфичного иммунитета (ЦМВ, АДВ и ЭБВ) на основании ежемесячного анализа методом ИФН- γ ELISPOT, общее количественное восстановление основных субпопуляций лимфоцитов, CI смертности, связанной с процедурой трансплантации (TRM), CI рецидива лейкемии, общая (OB) и бессобытийная (BCV) выживаемость. Анализ рандомизированной когорты был проведен в соответствии с принципом intent-to-treat.

Режим профилактики РТПХ, используемый в когорте проспективного исследования, значительно отличался от нашего предыдущего опыта с точки зрения применения поликлональной серотерапии. Исследование в когорте пациентов с рефрактерным ОМЛ показало, что замена АТГ на тоцилизумаб и абатацепт не ставит под угрозу приживление и контроль РТПХ среди получателей $\alpha\beta$ -Т-деплементированных трансплантатов. Для дальнейшего изучения последствий отказа от использования АТГ мы сравнили избранные ключевые исходы: острую РТПХ, TRM, CI рецидива и количественные показатели восстановления иммунной системы между проспективной когортой и группой исторического контроля. Группа исторического контроля была выбрана из проспективно собранной педиатрической базы данных ТГСК, выполненных в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, на основе следующих критериев: $\alpha\beta$ -Т-деплегия как метод обработки трансплантата, гемобластоз в качестве основного показания к ТГСК, использование кроличьего АТГ (Genzyme) в качестве серотерапии и отсутствие посттрансплантационной иммуносупрессивной терапии, за исключением препарата бортезомиб. Применяемые режимы кондиционирования и общая сопроводительная терапия были идентичны режимам в проспективной когорте. В группу исторического контроля были включены 108 пациентов, трансплантированных в период с января 2014 г. по июль 2017 г. Подробная характеристика группы исто-

рического контроля и сравнение основных характеристик между проспективной и исторической когортами обобщены в *таблице 1*.

Статистика

Рецидив, смерть от любой причины и неприживление считались событиями при оценке БСВ. U-тест Манна–Уитни, хи-квадрат и точный тест Фишера были использованы для группового сравнения и анализа таблиц сопряжения. TRM и CI рецидива рассматривались как конкурирующие риски, тест Fine–Gray был использован для сравнения групп. Выживаемость оценивалась тестом Каплана–Майера, тест log-rank был использован для сравнения групп. Для расчета выживаемости и CI живые пациенты были цензурированы на 28.04.2020, медиана наблюдения для выживших составила 2 года в проспективной когорте и 4 года в когорте исторического контроля. Для анализа был использован программный пакет XLSTAT (Addinsoft, Париж). Исследование поддержано решением ученого совета и одобрено локальным этическим комитетом и экспертной комиссией НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и зарегистрировано под номером NCT02942173 в clinicaltrials.gov.

Анализ эффекта был основан на принципе intent-to-treat (все участники, перенесшие рандомизацию, были включены). Расчет размера выборки был основан на альтернативной гипотезе (односторонней), что разница в кумулятивной частоте ЦМВ-реактивации между группами сравнения будет больше 25% при 80% мощности и 95% доверительном интервале (ДИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приживление

Один пациент в проспективной когорте умер до приживления. В 146 случаях было зарегистрировано первичное приживление, а медиана интервала до приживления нейтрофилов и тромбоцитов составила 11 (7–24) дней и 13 (10–33) дней соответственно. По одному случаю первичной недостаточности трансплантата было зарегистрировано в каждом рукаве исследования, оба пациента были успешно повторно трансплантированы. CI гемопоэтического приживления составил 98% (95% ДИ 96–100), со значениями 99% в экспериментальной группе и 97% в контроле. Случаев вторичной недостаточности трансплантата не было. Полный донорский химеризм был достигнут к дню +30 во всех случаях (*таблица 2*).

Реакция «трансплантат против хозяина»

Был диагностирован 21 случай острой РТПХ II–IV стадии: 11 случаев в экспериментальном рукаве и 10 – в контрольном. CI острой РТПХ II–IV стадии

Таблица 2
Одновариантный анализ основных исходов
Table 2
A univariate analysis of primary outcomes

Переменная Variable	Рукава проспективной когорты Arms of the prospective cohort					Проспективная группа против исторического контроля The prospective group versus the historical control				
	ИДЛ+ (экспериментальная группа; n = 76) DLI+ (experimental group; n = 76)		ИДЛ- (контрольная группа; n = 73) DLI- (control group; n = 73)		p-критерий p-value	Проспективная когорта (АТГ-; n = 149) Prospective cohort (ATG-; n = 149)		Историческая когорта (АТГ+; n = 108) Historical cohort (ATG+; n = 108)		p-критерий p-value
Кумулятивная вероятность Cumulative probability	95% ДИ, % 95% CI, %	События, n Events, n	95% ДИ, % 95% CI, %	События, n Events, n		95% ДИ, % 95% CI, %	События, n Events, n	95% ДИ, % 95% CI, %	События, n Events, n	
Приживление, день +30 Engraftment, day +30	99 (96–100)	75	97 (94–100)	71	0,18	98 (95–100)	146	98 (94–100)	103	0,50
Острая РТПХ, стадия II–IV, день +120 Acute GVHD, grade II–IV, day +120	14 (8–25)	11	12 (7–23)	10	0,72	13 (9–20)	21	16 (10–24)	17	0,23
Острая РТПХ, стадия III–IV, день +120 Acute GVHD, grade III–IV, day +120	8 (4–17)	6	4 (1–12)	4	0,33	6 (3–14)	10	4 (1–9)	4	0,40
хРТПХ, 1 год cGVHD, 1 year	6 (2–16)	4	7 (3–16)	6	0,60	7 (5–14)	10	13 (8–21)	14	0,07
ЦМВ-виремия, день +120 CMV viremia, day +120	45 (35–57)	35	55 (45–67)	38	0,40	51 (42–58)	73	52 (43–62)	58	0,50
TRM, 2 года TRM, 2 years	3 (1–10)	2	1 (0–10)	1	0,60	2 (1–7)	3	13 (8–21)	14	0,002
Рецидив, 2 года Relapse, 2 years	26 (17–38)	21	25 (16–38)	18	0,70	26 (20–34)	39	19 (13–28)	22	0,20
БСВ, 2 года EFS, 2 years	69 (58–79)	24	72 (62–83)	19	0,50	71 (61–81)	43	67 (58–76)	38	0,39
ОВ, 2 года OS, 2 years	78 (69–88)	17	83 (74–92)	11	0,30	81 (73–87)	28	76 (68–84)	28	0,32

Notes. TRM – transplant-related mortality.

составил 13% (95% ДИ 9–20) в общей когорте (рисунки 2А), 14,5% (95% ДИ 8–25) – в экспериментальной группе и 12% (95% ДИ 7–23) – в контрольной группе ($p = n. s.$) (рисунки 2Б). CI острой РТПХ III–IV стадии составил 6% (95% ДИ 3–14) в общей когорте, 8% (95% ДИ 4–17) – в экспериментальной группе и 4% (95% ДИ 1–12) в контрольной группе ($p = n. s.$) (рисунки 2В). Острая РТПХ IV стадии была диагностирована в 1 случае. Хроническая РТПХ зафиксирована в 9 случаях: 4 в экспериментальном рукаве и 5 в контрольном. Кумулятивная вероятность хронической РТПХ составила 7% (95% ДИ 4–13) и не отличалась существенно между экспериментальной и контрольной группами, 6% (95% ДИ 2–16) и 7% (95% ДИ 3–16) соответственно (рисунки 2Г). Степень тяжести хронической РТПХ была легкой в 2 случаях, умеренной – в 5 и тяжелой – в 2 случаях, разницы между группами не наблюдалось. В общей сложности 26 (18%) пациентов получили системную иммуносупрессивную терапию для лечения РТПХ и 8 (5%) – иммуносупрессивную терапию на момент последнего наблюдения. Ни один из пациентов с II–IV стадией острой РТПХ или хронической РТПХ не умер от причин, не связанных с рецидивом лейкоза.

В группе исторического контроля CI острой РТПХ II–IV стадии составил 16% (95% ДИ 10–24), а CI острой

РТПХ III–IV стадии – 4% (95% ДИ 1–9), без значимых различий с проспективной когортой (рисунки 2Д, Е). Выявлен тренд к более высокой частоте хронической РТПХ в исторической контрольной группе, составившей 13% (95% ДИ 8–21) (рисунки 2Ж).

Вирусные инфекции

ЦМВ-виремия была обнаружена у 76 пациентов на медианном сроке 40 (5–202) дней после ТГСК. CI ЦМВ-виремии составил 50% (95% ДИ 42–58) в общей популяции со значениями 45% (95% ДИ 35–57) в экспериментальной группе и 55% (95% ДИ 45–67) в контрольной группе ($p = n. s.$) (рисунки 3А, Б). Медиана продолжительности ЦМВ-виремии составила 3 (диапазон 1–9) нед. Максимальная вирусная нагрузка составила 11 600 (диапазон 500–221 000) копий генома/мл. Медиана продолжительности противовирусной терапии для ЦМВ составила 32 (5–140) дня. ЦМВ-болезнь была диагностирована в 20 случаях: 13 (17%) в экспериментальной группе и 7 (10%) в контроле. Большинство случаев ЦМВ проявлялись как ЦМВ-ретинит. ЦМВ-пневмония или ЦМВ-колит развились у 15 пациентов. АДВ-виремия была обнаружена у 8 пациентов в среднем через 59 (27–92) дней после ТГСК. CI АДВ-виремии составил 5% (95% ДИ 3–10) для всей выборки, 8% (95% ДИ

Рисунок 2

РТПХ: А – острая, стадия II–IV, вся когорта; Б) острая, стадия II–IV, сравнение рукавов рандомизированного исследования; В – острая, стадия III–IV, сравнение рукавов рандомизированного исследования; Г – хроническая, сравнение рукавов рандомизированного исследования; Д – острая, стадия II–IV, проспективная когорта против исторической; Е – острая, стадия III–IV, проспективная когорта против исторической; Ж – хроническая, проспективная когорта против исторической

Figure 2

GVHD: А – acute, II–IV stage, the whole cohort; Б – acute, grade II–IV, comparison of the arms of the randomized study; В – acute, grade III–IV, comparison of the arms of the randomized study; Г – chronic, comparison of the arms of the randomized study; Д – chronic, grade II–IV, the prospective group versus the historical cohort; Е – acute, grade III–IV, the prospective group versus the historical cohort; Ж – chronic, the prospective group versus the historical cohort

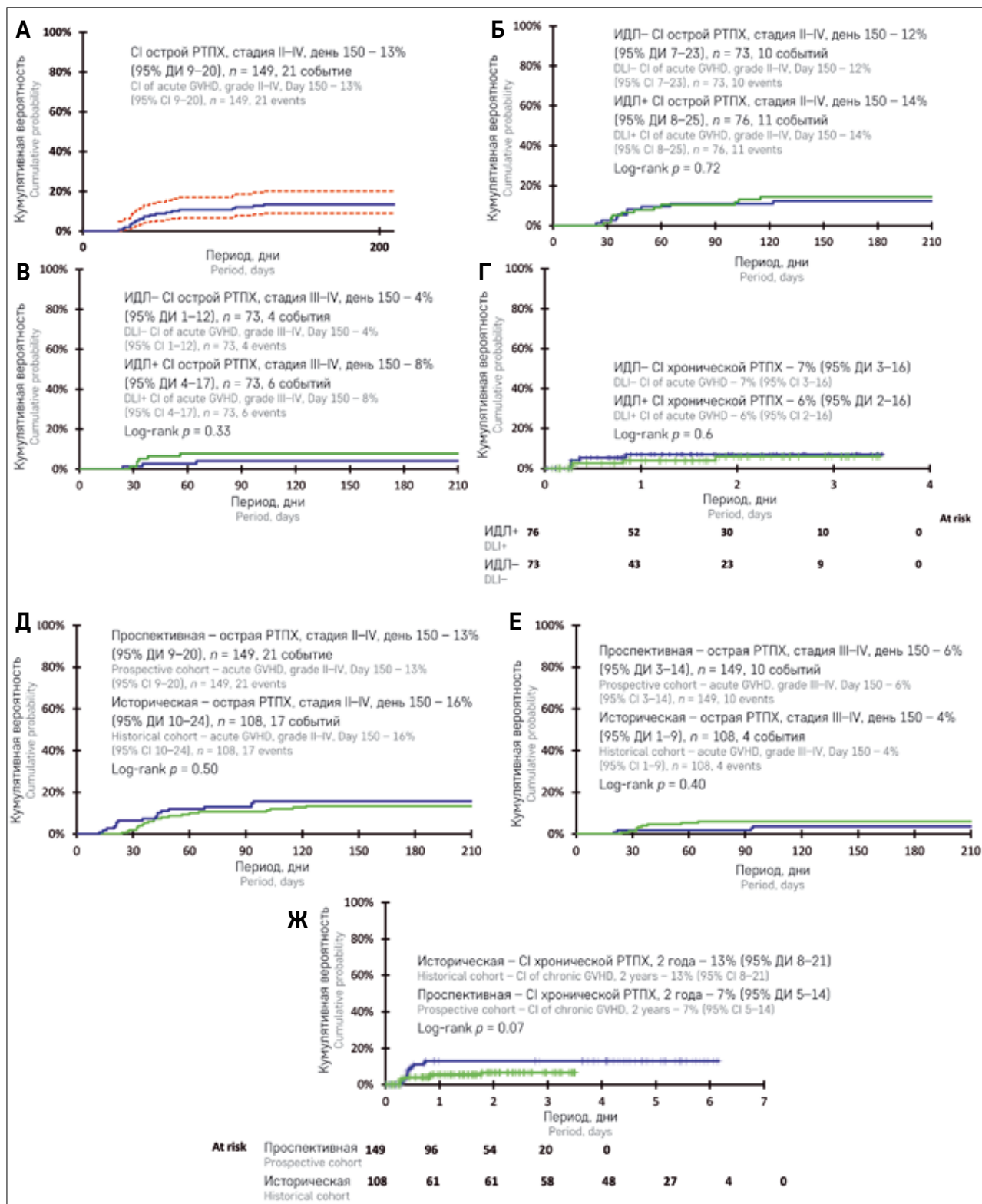
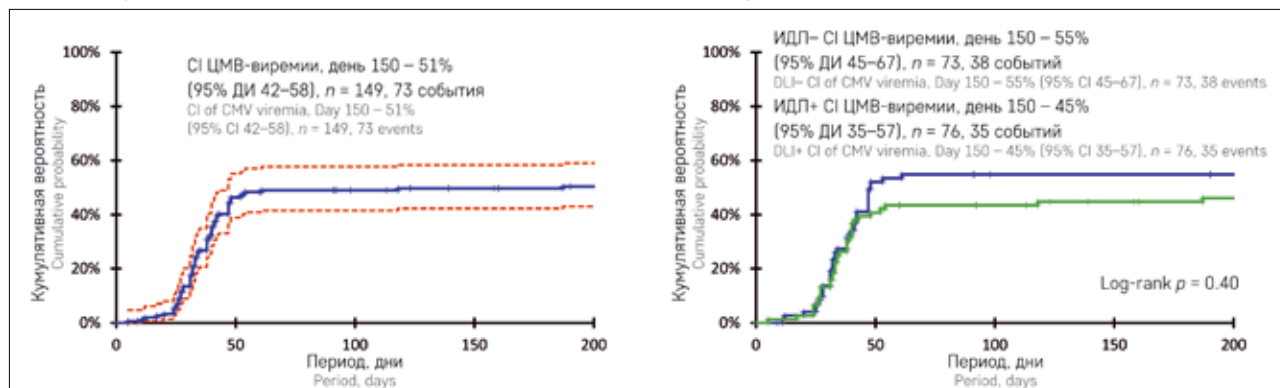


Рисунок 3

Кумулятивная вероятность ЦМВ-реактивации: А – во всей когорте; Б – сравнение рукавов рандомизированного исследования

Figure 3

Cumulative probability of CMV reactivation: A – in the whole cohort; B – comparison of the arms of the randomized study



4–17) в экспериментальной и 3% (95% ДИ 1–12) в контрольной группах ($p = n. s.$). АДВ-болезнь был диагностирована в 8 (5%) случаях: 6 (8%) в экспериментальной группе и 2 (3%) в контроле. АДВ-болезнь проявлялась как гастроэнтероколит. ЭБВ-виремия была обнаружена у 4 пациентов в среднем через 55 (10–124) дней после ТГСК. Совокупный риск ЭБВ-виремии составил 3% (95% ДИ 1–7) для всей выборки, 4% (95% ДИ 1–12) в экспериментальной группе и 1% (95% ДИ 1–10) в контроле ($p = n. s.$). Случаев ЭБВ-болезни зарегистрировано не было. ВГЧ-6-виремия была обнаружена у 7 пациентов в среднем через 36 (5–105) дней после ТГСК. Совокупный риск ВГЧ-6-виремии составил 5% (95% ДИ 2–10) для общей популяции, 4% (95% ДИ 1–12) в экспериментальной группе и 5% (95% ДИ 2–14) в контроле ($p = n. s.$). Болезнь ВГЧ-6 была диагностирована в 3 (2%) случаях, 1 – в экспериментальной группе и 2 – в контроле. Таким образом, существенной разницы между группами в отношении вирусных инфекций выявлено не было.

СИ ЦМВ-виремии в историческом контроле составил 54% (95% ДИ 45–63), АДВ-виремии – 11% (95% ДИ 7–22). Случаев ЭБВ-виремии зарегистрировано не было. Следует отметить, что, несмотря на аналогичную частоту реактивации вирусных инфекций, их вклад в TRM оказался существенным в когорте исторического контроля, как описано ниже.

Общая и патоген-специфическая иммунореактивация

Восстановление основных субпопуляций лимфоцитов происходило одинаково в группах сравнения во всех временных точках, как показано на рисунке 4А. Напротив, сравнение проспективной когорты и исторического контроля показало существенное улучшение восстановления Т-лимфоцитов, как $\alpha\beta$ - так и $\gamma\delta$ -типа, в дни +30 и +60 после ТГСК (рисунок 4Б, В).

Восстановление НК-клеток не отличалось ни между группами рандомизации, ни между проспективной и исторической когортами.

Восстановление вирус-специфического иммунного ответа оценивалось на основе доли пациентов с детектируемым вирус-специфическими Т-клеточным ответом, определяемым методом ИФН- γ ELISPOT. Результаты этого анализа выявили незначимые различия в доле пациентов с обнаруживаемым Т-клеточным ответом на ЦМВ в день +30, как показано на рисунке 5А.

Анализ подгруппы ЦМВ-серопозитивных реципиентов ($n = 110$) показал значительно улучшенное восстановления ЦМВ-специфических Т-клеток на 30-й день среди пациентов в экспериментальной группе (61% против 41%, $p = 0,03$) (рисунок 5Б). Примечательно, что в общей когорте восстановление ЦМВ-специфического иммунного ответа в этот ранний момент времени было тесно связано с ЦМВ-серопозитивностью реципиента до ТГСК (рисунок 5В). По сравнению с исторической когортой восстановление ЦМВ-специфического иммунного ответа было значительно улучшено в проспективной когорте (рисунок 5Г).

Смертность, связанная с трансплантацией, и рецидив лейкоза

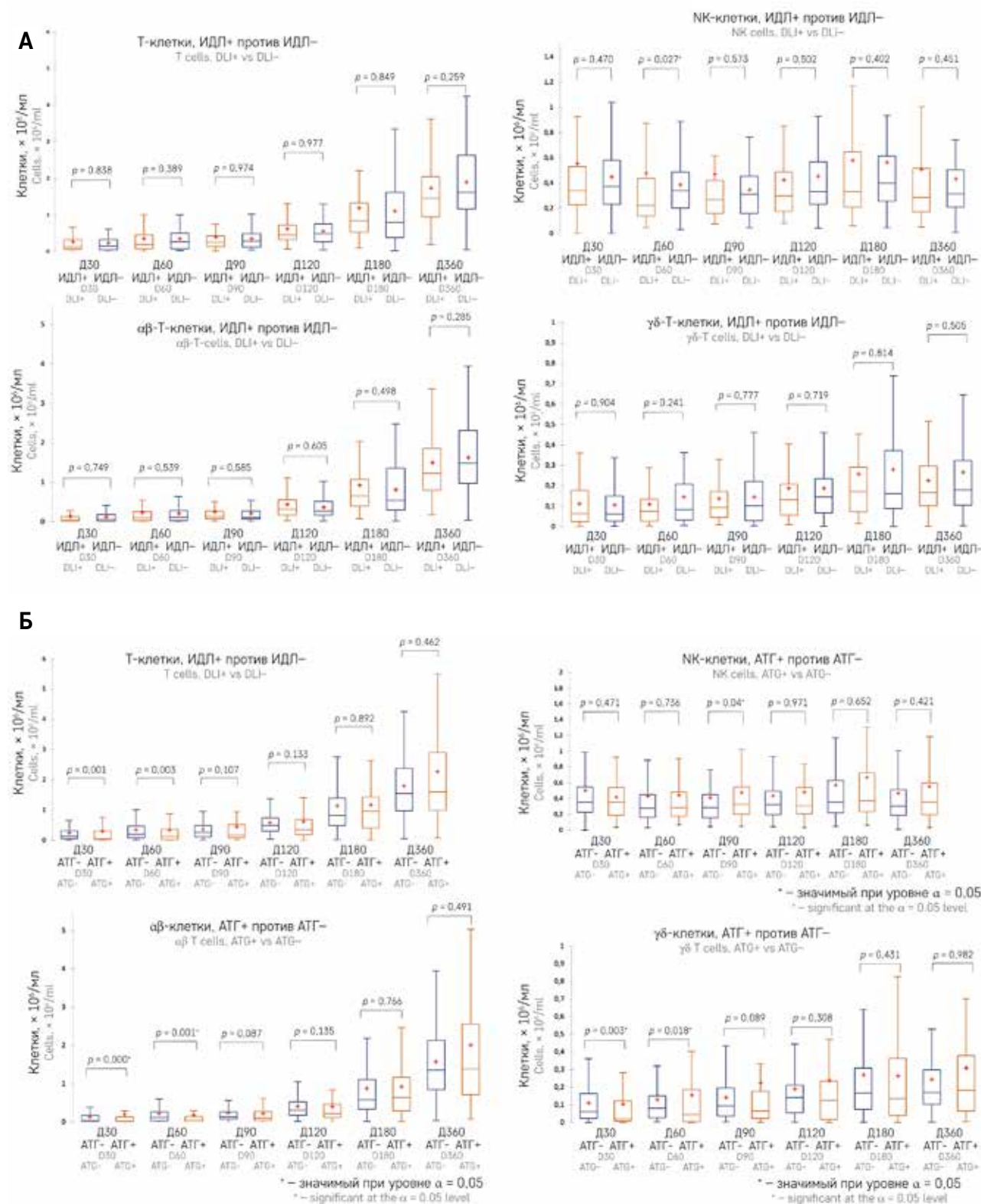
Три пациента из проспективной когорты исследования умерли из-за причин, не связанных с рецидивом злокачественного заболевания. Причины смерти включали сепсис до приживления ($n = 1$), АДВ-болезнь ($n = 1$) и сепсис *K. pneumoniae* у пациента с комбинированной ЦМВ (легкие, кишечник) и АДВ (кишка, печень) болезнью. СИ TRM на сроке 2 года составил 2% (95% ДИ 1–6) в общей когорте, 2,6% (95% ДИ 1–10) в экспериментальной группе и 1,4% (95% ДИ 1–10) в контроле ($p = n. s.$) (рисунок 6А). Показатель TRM в когорте исторического контроля составил 13% (95% ДИ 8–21), что было значительно

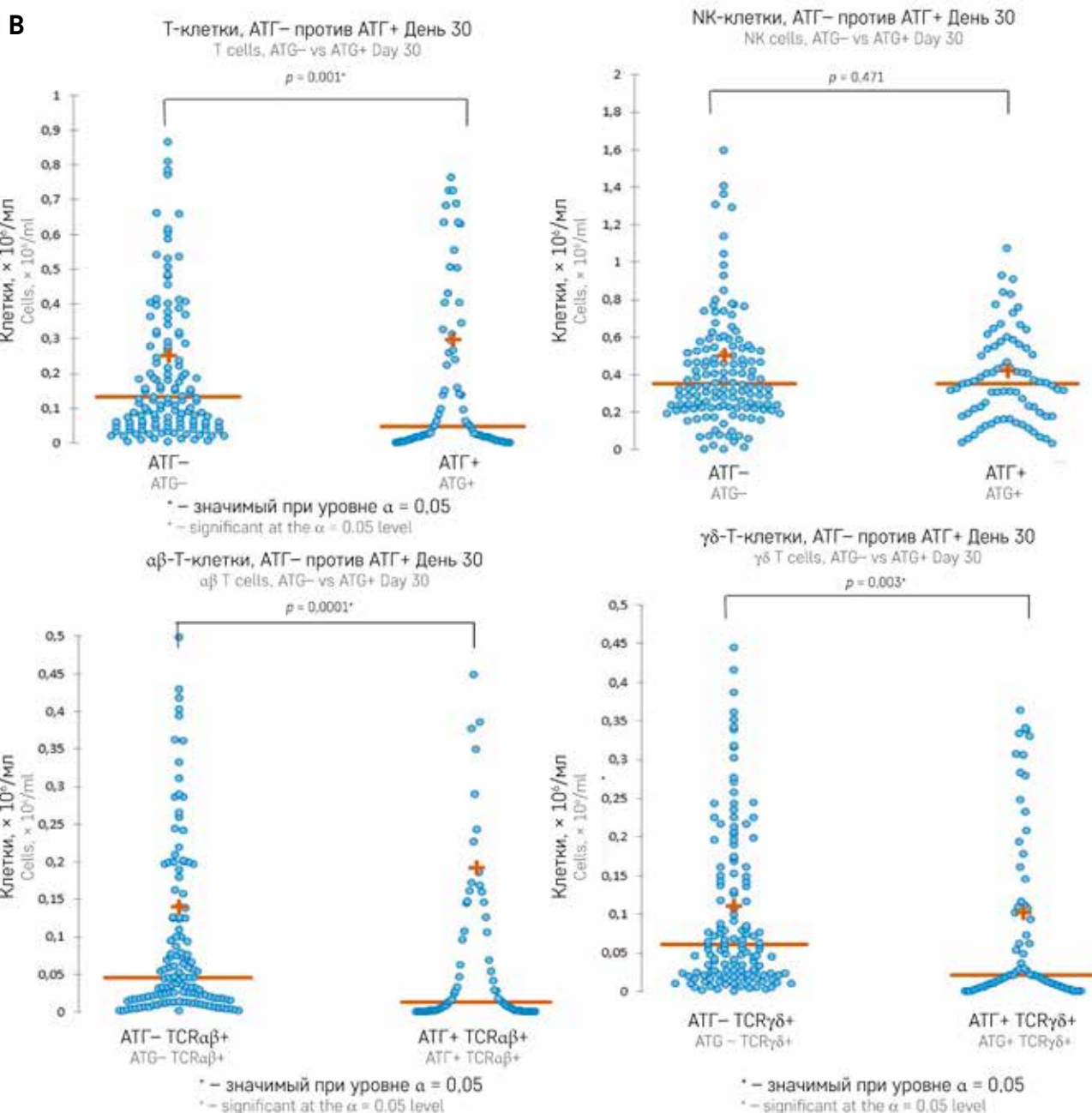
Рисунок 4

А – глобальная иммунореактивация: восстановление общих Т-, NK-, $\alpha\beta$ -Т- и $\gamma\delta$ -Т-клеток, сравнение групп рандомизированного исследования; Б – глобальная иммунореактивация: восстановление Т-, NK-, $\alpha\beta$ -Т- и $\gamma\delta$ -Т-клеток, проспективная когорта против исторического контроля; В – ранняя иммунореактивация: представлено абсолютное значение ($\times 10^6$ /мл) основных популяций лимфоцитов, горизонтальные линии представляют медиану, знак «+» – среднее значение

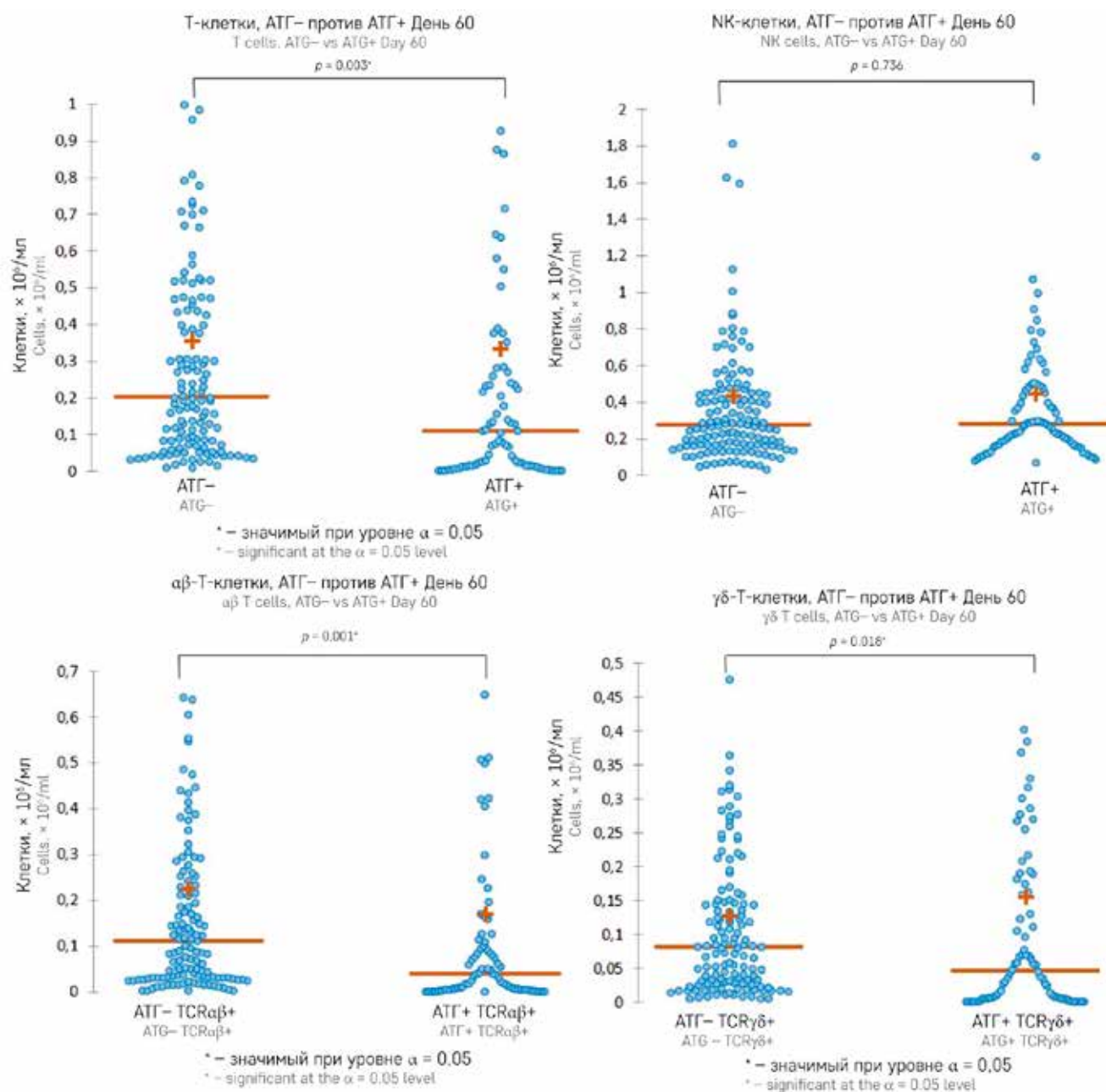
Figure 4

А – global immune reconstitution: recovery of total T cells, NK cells, $\alpha\beta$ -T-cells and $\gamma\delta$ -T-cells, comparison of the arms of the randomized study; Б – global immune reconstitution: recovery of total T cells, NK cells, $\alpha\beta$ -T-cells and $\gamma\delta$ -T-cells, the prospective cohort vs the historical control; В – early immune reconstitution: the figure shows the absolute value ($\times 10^6$ /ml) of the major lymphocyte populations, the horizontal lines represent the median, «+» represents the mean value





День 30 Day 30	Т-клетки T cells		NK-клетки NK cells		αβ-Т-клетки αβ T cells		γδ-Т-клетки γδ T cells	
	АТГ– ATG –	АТГ+ ATG +	АТГ– ATG –	АТГ+ ATG +	АТГ– ATG –	АТГ+ ATG +	АТГ– ATG –	АТГ+ ATG +
Критерий Манна–Уитни, <i>p</i> The Mann–Whitney test, <i>p</i>	0,001		0,47		0,0001		0,003	
<i>n</i>	149	108	149	108	149	108	149	108
Минимум Minimum	0,003	0,000	0,000	0,034	0,001	0,000	0,000	0,000
Максимум Maximum	1,699	7,719	5,720	3,515	1,563	7,488	0,556	1,061
1-й квартиль 1st quartile	0,058	0,013	0,228	0,189	0,017	0,001	0,023	0,008
Медиана Median	0,133	0,046	0,353	0,354	0,046	0,013	0,061	0,021
3-й квартиль 3rd quartile	0,330	0,315	0,547	0,542	0,171	0,130	0,164	0,123
Значение Value	0,251	0,297	0,504	0,421	0,139	0,192	0,110	0,103



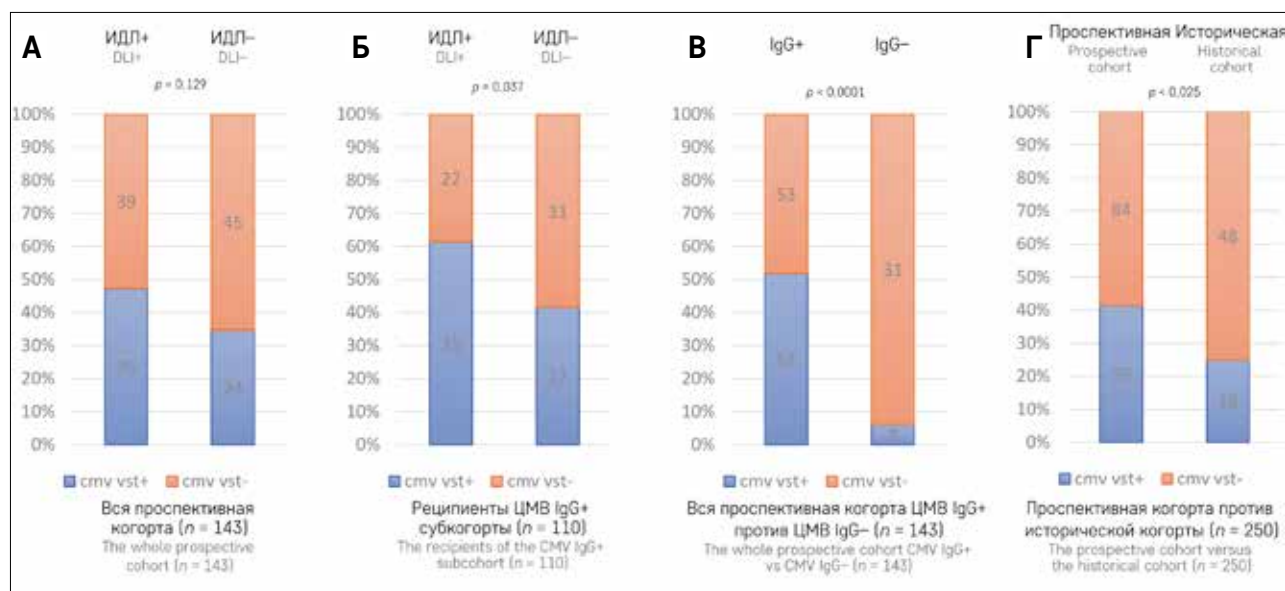
День 30 Day 30	T-клетки T cells		NK-клетки NK cells		$\alpha\beta$ -T-клетки $\alpha\beta$ T cells		$\gamma\delta$ -T-клетки $\gamma\delta$ T cells	
	ATG- ATG -	ATG+ ATG +	ATG- ATG -	ATG+ ATG +	ATG- ATG -	ATG+ ATG +	ATG- ATG -	ATG+ ATG +
Критерий Манна-Уитни, p The Mann-Whitney test, p	0,003		0,736		0,001		0,018	
n	149	108	149	108	149	108	149	108
Минимум Minimum	0,009	0,000	0,031	0,068	0,002	0,000	0,004	0,000
Максимум Maximum	2,589	2,561	6,315	5,722	2,442	1,347	1,070	2,049
1-й квартиль 1st quartile	0,081	0,015	0,162	0,175	0,031	0,005	0,028	0,005
Медиана Median	0,203	0,111	0,276	0,282	0,113	0,041	0,082	0,046
3-й квартиль 3rd quartile	0,469	0,368	0,452	0,484	0,262	0,151	0,150	0,187
Значение Value	0,354	0,333	0,433	0,445	0,226	0,170	0,128	0,156

Рисунок 5

Восстановление патогенспецифичного иммунного ответа на день +30: А – пропорция пациентов с восстановлением вирус-специфичных Т-клеток к ЦМВ, сравнение рукавов рандомизированного исследования; Б – пропорция пациентов с восстановлением вирус-специфичных Т-клеток к ЦМВ в субкогорте ЦМВ-серопозитивных реципиентов, сравнение рукавов рандомизированного исследования; В – пропорция пациентов с восстановлением вирус-специфичных Т-клеток к ЦМВ, ЦМВ-серопозитивная субкогорта против ЦМВ-серонегативной субкогорты; Г – группа исторического контроля против проспективной когорты

Figure 5

The recovery of pathogen-specific immune response on Day +30: А – the proportion of patients with the recovery of CMV-specific T cells, comparison of the arms of the randomized study; Б – the proportion of patients with the recovery of CMV-specific T cells in the subcohort of CMV-seropositive recipients, comparison of the arms of the randomized study; В – the proportion of patients with the recovery of CMV-specific T cells, the CMV-seropositive subcohort vs the CMV-seronegative subcohort; Г – the historical control versus the prospective cohort



выше, чем TRM в проспективном исследовании ($p = 0,02$) (рисунок 7А).

Рецидив злокачественного заболевания был зарегистрирован у 37 пациентов: у 20 в экспериментальной группе и у 17 в контроле, а медиана времени рецидива составила 7 мес (диапазон от 1 мес до 2 лет). CI рецидива через 2 года составил 25% (95% ДИ 19–34) среди общей когорты, 26% (95% ДИ 17–38) в экспериментальной группе и 25% (95% ДИ 16–38) в контроле ($p = n. s.$) (рисунок 6Б). Риск рецидива в исторической когорте составил 19% (95% ДИ 13–28), что незначительно ниже, чем в проспективной когорте ($p = 0,17$) (рисунок 7Б).

Бессобытийная и общая выживаемость

Сто шесть пациентов были живы и остаются в полной продолжительной ремиссии на момент последнего наблюдения: 52 в экспериментальной группе и 54 в контроле. Показатель БСВ на сроке 2 года составил 71% (95% ДИ 63–78) во всей выборке, 69% (95% ДИ 58–79) в экспериментальной группе и 72% (95% ДИ 62–83) в контроле ($p = n. s.$) (рисунок 6В).

Сто двадцать один пациент был жив на момент последнего наблюдения: 59 в экспериментальной группе и 62 в контроле. ОВ через 2 года составила 80% (95% ДИ 74–87) во всей выборке, 79% (95% ДИ

69–88) в экспериментальной группе и 83% (95% ДИ 74–93) в контрольной ($p = n. s.$). Показатель ОВ не отличался между основными группами, например ОМЛ и ОЛЛ, а также между группами сравнения (рисунок 6Г). Различия в БСВ и ОВ между проспективной когортой и группой исторического контроля не были статистически значимыми (рисунок 7В, Г).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель рандомизированного исследования, представленного в настоящей статье, заключается в оценке безопасности и эффективности ИДЛ памяти среди реципиентов ТГСК на платформе $\alpha\beta$ -Т-деплеции в популяции детей с гематологическими злокачественными заболеваниями.

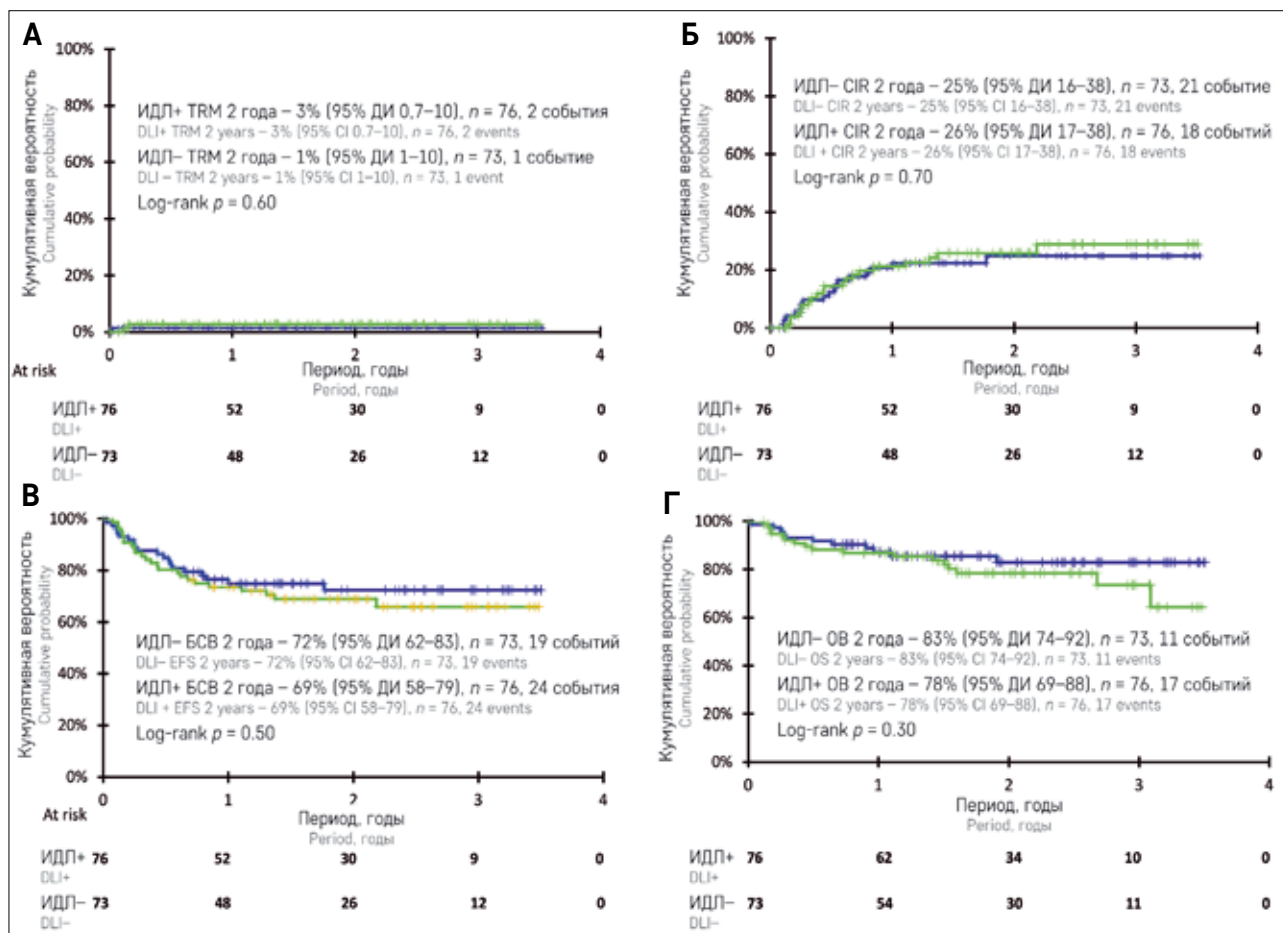
ИДЛ памяти выполнялись одновременно с первичным трансплантатом, а затем ежемесячно. Наш анализ показывает, что низкие дозы ИДЛ памяти являются безопасными, так как эти инфузии не увеличивают риск острой РТПХ, в том числе тяжелых форм, или хронической РТПХ и подтверждают наше предыдущее наблюдение о безопасности низкодозированных ИДЛ памяти после приживления. Эффективность воздействия оценивалась на основе способности ИДЛ памяти предотвращать реактивацию ЦМВ. Статистическая мощность иссле-

Рисунок 6

А – трансплантат-ассоциированная смертность, сравнение рук рандомизированного исследования; Б – кумулятивная вероятность рецидива, сравнение рук рандомизированного исследования; В – БСВ, сравнение рук рандомизированного исследования; Г – ОВ, сравнение рук рандомизированного исследования

Figure 6

А – transplant-related mortality, comparison of the arms of the randomized study; Б – cumulative probability of relapse, comparison of the arms of the randomized study; В – event-free survival (EFS), comparison of the arms of the randomized study; Г – overall survival (OS), comparison of the arms of the randomized study



дования не была достаточной, чтобы доказать, что ИДЛ памяти способны снижать риск реактивации ЦМВ и, таким образом, исследование не достигло одной из первичных конечных точек. Среди потенциальных причин этого мы предполагаем завышенную оценку (на основе нашего предыдущего опыта) CI ЦМВ-реактивации в контрольной группе и биологическое требование к взаимодействию с антигеном (репликация вируса) для стимуляции размножения вирус-специфических Т-лимфоцитов [9, 13]. Вторичные клинические точки, включая TRM, БСВ и ОВ, не отличались между изучаемыми группами сравнения. Примечательно, однако, что показатель TRM был исключительно низким (на уровне 2%) для всей когорты, хотя 90% доноров были гаплоидентичными и применялся интенсивный режим кондиционирования. Глобальное иммунное восстановление основных субпопуляций лимфоцитов не отличалось между изучаемыми группами сравнения. Интересно, что

ИДЛ памяти значительно улучшили долю пациентов с функциональным восстановлением вирус-специфического иммунного ответа на раннем сроке среди ЦМВ-серопозитивных больных. Это наблюдение подтверждает ключевую роль воздействия антигена в экспансии и персистенции вирус-специфических Т-клеток. Это наблюдение имеет важные последствия для дальнейшего развития профилактической адоптивной клеточной терапии вирусных инфекций, которая должна включать в себя либо широкий репертуар наивных Т-клеток, либо средство экспозиции к антигену, например некоторую форму вакцинации.

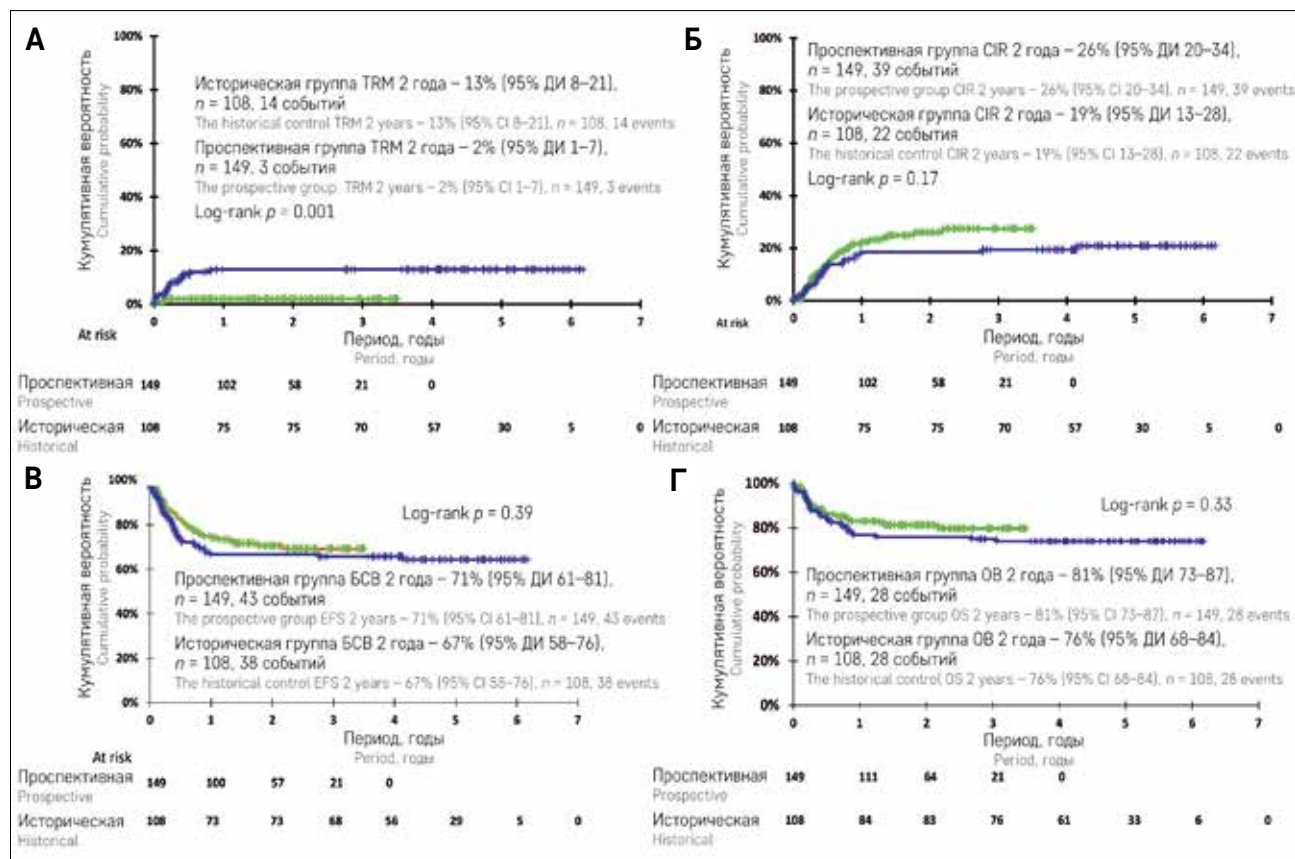
Одной из ключевых новых особенностей проспективного испытания был отказ от предтрансплантационной поликлональной серотерапии кроличьим АТГ. Большинство опубликованных работ об $\alpha\beta$ -Т-деплеции полагаются на препараты АТГ для обеспечения приживления и улучшения контроля РТПХ

Рисунок 7

А – трансплантат-ассоциированная смертность, историческая когорта против проспективной; Б – кумулятивная вероятность рецидива, историческая когорта против проспективной; В – БСВ, историческая когорта против проспективной; Г – ОВ, историческая когорта против проспективной

Figure 7

А – transplant-related mortality, the historical cohort vs the prospective cohort; Б – cumulative probability of relapse, the historical cohort vs the prospective cohort; В – EFS, the historical cohort vs the prospective cohort; Г – OS, the historical cohort vs the prospective cohort



[3, 4, 7]. Различные препараты АТГ, а также доза и сроки их применения могут привести к различным результатам. Проблема фармакокинетической изменчивости АТГ хорошо известна в области ТГСК и многочисленные сообщения указывают, что их чрезмерное воздействие после трансплантации может привести к задержке восстановления иммунитета и повышенному риску инфекций и TRM [16–20]. Мы предположили, что циркулирующий АТГ в течение первых недель после ТГСК будет блокировать активацию и распространение перенесенных донорских Т-клеток памяти и таким образом исключит возможность оценки первичной конечной точки эффективности. Сочетание блокады интерлейкина-6 и блокады ко-стимуляторного сигнала потенциально может предотвратить начало РТПХ без чрезмерной лимфодеплеции. Оба препарата, тоцилизумаб и абатацепт, как сообщается, могут улучшить контроль РТПХ в условиях Т-реплетирующей ТГСК [11, 12]. Эта комбинация была также успешно применена нашей группой в условиях ТГСК с $\alpha\beta$ -деплецией при рефрактерном ОМЛ [10]. Настоящий анализ, в част-

ности сравнение проспективной когорты и группы исторического контроля, указывает, что кроличий АТГ действительно задерживает восстановление Т-клеток, в то время как в условиях замены АТГ на тоцилизумаб и абатацепт даже небольшие дозы Т-клеток, перенесенных в составе первичного трансплантата, равно как и ИДЛ памяти, получают возможность размножаться и функционировать надлежащим образом. Это находит свое отражение в повышении абсолютного содержания $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-клеток в дни +30 и +60 после ТГСК. Примечательно, что TRM, в основном связанная с вирусными инфекциями, значительно снизилась и достигла 2% в проспективной когорте – уровень, не достигавшийся ранее в условиях ТГСК от гаплоидентичных доноров. Это клинически значимое улучшение может быть связано с функционированием и экспансией антиген-специфических клонов $\alpha\beta$ -Т-клеток, а также $\gamma\delta$ -Т-клеток, которые обеспечивают защиту от инфекций и позволяют выиграть время для физиологического восстановления тимопоэза. Хотя отказ от АТГ уже был опробован в небольшом экспериментальном исследовании

довании, мы считаем, что нынешний анализ представляет новые и веские доказательства того, что в контексте интенсивного кондиционирования замена АТГ на таргетную иммуномодуляцию не ставит под угрозу приживление и обеспечивает достаточно хороший контроль над РТПХ.

Частота рецидива злокачественных новообразований не была снижена. Ни ИДЛ памяти, ни отказ от АТГ не оказали существенного влияния на данный ключевой показатель эффективности ТГСК. Это отчасти противоречит ожиданиям и существует несколько возможных объяснений. Неравномерное распределение показаний к ТГСК с преобладанием пациентов с ОМЛ в исторической когорте, которые потенциально более чувствительны к воздействию аллореактивности НК-клеток [21], является одним из потенциальных объяснений. Ограниченная аллореактивность Т-клеток памяти является еще одним возможным объяснением. Существует также возможность того, что у некоторых пациентов АТГ может оказывать прямой антилейкемический эффект, как это было предложено некоторыми исследователями, но не полностью поддерживается клиническими данными [22, 23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование низких доз ИДЛ памяти, начиная уже с дня 0 после ТГСК от гаплоидентичного донора, является безопасным. Такой подход может улучшить восстановление вирус-специфических Т-клеток, но не предотвращает ЦМВ-виремию. Мы предлагаем, что в отсутствие подавления иммунитета у большинства пациентов функциональность

ИДЛ памяти может быть дополнительно повышена с помощью рационально разработанного подхода к вакцинации. Мы показали, что замена АТГ таргетной иммуномодуляцией улучшила раннее восстановление Т-клеток и значительно снизила уровень TRM – результат первостепенной важности. На основе этих результатов может быть реализован полный противоволейкемический потенциал гаплоидентичной ТГСК, и дальнейшие подходы должны быть направлены на предотвращение рецидива лейкемии в качестве ключевой нерешенной проблемы ТГСК среди детей со злокачественными признаками.

Благодарность

Авторы выражают благодарность благотворительному фонду «Подари жизнь» и фонду «Наука – детям» за постоянную поддержку исследований в области трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и клиническую помощь детям в отделении трансплантации гемопоэтических стволовых клеток НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Shelikhova L.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0520-5630>

Balashov D.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2689-0569>

Skvortsova Y.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0566-053X>

Maschan M.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

- Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., Kurnikova E., Boyakova E., Balashov D., et al. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (5): 668–74.
- Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., Trakhtman P., Skvortsova Yu., Shelikhova L., et al. Single-Center Experience of Unrelated and Haploidentical Stem Cell Transplantation with TCRalpha/beta and CD19 Depletion in Children with Primary Immunodeficiency Syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (11): 1955–62.
- Bertaina A., Merli P., Rutella S., Pagliara D., Bernardo M.E., Masetti R., et al. HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of $\alpha\beta^+$ T and B cells in children with nonmalignant disorders. *Blood* 2014; 124 (5): 822–6.
- Locatelli F., Merli P., Pagliara D., Li Pira G., Falco M., Pende D., et al. Outcome of children with acute leukemia given HLA-haploidentical HSCT after alphabeta T-cell and B-cell depletion. *Blood* 2017; 130 (5): 677–85.
- Im H.J., Koh K.N., Suh J.K., Lee S.W., Choi E.S., Jang S., et al. Refinement of treatment strategies in ex vivo T-cell-depleted haploidentical SCT for pediatric patients. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50(2): 225–31.
- Jacoby E., Varda-Bloom N., Goldstein G., Hutt D., Churi C., Vernitsky H., et al. Comparison of two cytoreductive regimens for alphabeta-T-cell-depleted haploidentical HSCT in pediatric malignancies: Improved engraftment and outcome with TBI-based regimen. *Pediatr Blood Cancer* 2018; 65 (2).
- Lang P., Feuchtinger T., Teltschik H.M., Schwinger W., Schlegel P., Pfeiffer M., et al. Improved immune recovery after transplantation of TCRalpha/beta/CD19-depleted allografts from haploidentical donors in pediatric patients. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 Suppl 2: S6–10.

8. Zvyagin I.V., Mamedov I.Z., Tatarnova O.V., Komech E.A., Kurnikova E.E., Boyakova E.V., et al. Tracking T-cell immune reconstitution after TCRalpha-beta/CD19-depleted hematopoietic cells transplantation in children. *Leukemia* 2017; 31 (5): 1145–53.
9. Maschan M., Blagov S., Shelikhova L., Shekhovtsova Z., Balashov D., Starichkova J., et al. Low-dose donor memory T-cell infusion after TCR alpha/beta depleted unrelated and haploidentical transplantation: results of a pilot trial. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53(3): 264–73.
10. Shelikhova L., Ilushina M., Shekhovtsova Z., Shasheleva D., Khismatullina R., Kurnikova E., et al. alphabeta T Cell-Depleted Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation without Antithymocyte Globulin in Children with Chemorefractory Acute Myelogenous Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25 (5): e179–82.
11. Kennedy G.A., Varelias A., Vuckovic S., Le Texier L., Gartlan K.H., Zhang P., et al. Addition of interleukin-6 inhibition with tocilizumab to standard graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic stem-cell transplantation: a phase 1/2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15 (13): 1451–9.
12. Jaiswal S.R., Bhakuni P., Zaman S., Bansal S., Bharadwaj P., Bhargava S., et al. T cell costimulation blockade promotes transplantation tolerance in combination with sirolimus and post-transplantation cyclophosphamide for haploidentical transplantation in children with severe aplastic anemia. *Transpl Immunol* 2017; 43–44: 54–9.
13. Laberko A., Bogoyavlenskaya A., Shelikhova L., Shekhovtsova Z., Balashov D., Voronin K., et al. Risk Factors for and the Clinical Impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Pediatric Recipients of TCR-alpha/beta- and CD19-Depleted Grafts. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23 (3): 483–90.
14. Filipovich A.H., Weisdorf D., Pavletic S., Socie G., Wingard J.R., Lee S.J., et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11 (12): 945–56.
15. Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hows J., et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15 (6): 825–8.
16. Admiraal R., Lindemans C.A., van Kesteren C., Bierings M.B., Versluijs A.B., Nierkens S., et al. Excellent T-cell reconstitution and survival depend on low ATG exposure after pediatric cord blood transplantation. *Blood* 2016; 128 (23): 2734–41.
17. Admiraal R., Nierkens S., de Witte M.A., Petersen E.J., Fleurke G.-J., Verrest L., et al. Association between anti-thymocyte globulin exposure and survival outcomes in adult unrelated haemopoietic cell transplantation: a multicentre, retrospective, pharmacodynamic cohort analysis. *Lancet Haematol* 2017; 4 (4): e183–91.
18. Admiraal R., van Kesteren C., Jol van der Zijde C.M., Lankester A.C., Bierings M.B., Egberts T.C.G., et al. Association between anti-thymocyte globulin exposure and CD4+ immune reconstitution in paediatric haemopoietic cell transplantation: a multicentre, retrospective pharmacodynamic cohort analysis. *Lancet Haematol* 2015; 2 (5): e194–203.
19. Lindemans C.A., Chiesa R., Amrolia P.J., Rao K., Nikolajeva O., de Wildt A., et al. Impact of thymoglobulin prior to pediatric unrelated umbilical cord blood transplantation on immune reconstitution and clinical outcome. *Blood* 2014; 123 (1): 126–32.
20. Scordo M., Bhatt V., Hilden P., Smith M., Thoren K., Cho C., et al. Standard Antithymocyte Globulin Dosing Results in Poorer Outcomes in Overexposed Patients after Ex Vivo CD34(+) Selected Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25 (8): 1526–35.
21. Grulich C., Ziegler C., Finke J. Rabbit anti T-lymphocyte globulin induces apoptosis in peripheral blood mononuclear cell compartments and leukemia cells, while hematopoietic stem cells are apoptosis resistant. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15 (2): 173–82.
22. Yang J., Cai Y., Jiang J.L., Wan L.P., Yan S.K., Wang C. Anti-thymocyte globulin could improve the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with highly aggressive T-cell tumors. *Blood Cancer J* 2015; 5: e332.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 23.03.2021
Принята к печати 15.04.2021

10.24287/1726-1708-2021-20-2-30-38

Первый опыт применения локально изготовленных CAR-T-клеток у пациентов с рецидивным/рефрактерным острым лимфобластным лейкозом в Беларуси

О.В. Алейникова¹, А.А. Мигас¹, Е.А. Столярова¹, А.В. Пунько¹, Л.В. Мовчан¹, А.В. Клыч¹, О.А. Мишкова¹, А.В. Гиль¹, А.Н. Мелешко¹, Н.Е. Конопля²

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Республика Беларусь, Минский район, д. Боровляны

²ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», Республика Беларусь, Минский район, аг. Лесной

Контактная информация:

Ольга Витальевна Алейникова, член-корр. НАН РБ, д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (Республика Беларусь)
Адрес: Республика Беларусь, 223053, Минский район, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43
E-mail: aleinikova2004@mail.ru

Результаты лечения рецидивного/рефрактерного острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) с помощью как стандартной, так и высокодозной химиотерапии являются неудовлетворительными и требуют разработки новых терапевтических опций. Применение подходов иммунотерапии открывает новые перспективы перед пациентами, у которых цитотоксическая химиотерапия оказалась неэффективной или непереносимой. Данная статья представляет собой описание опыта использования изготовленных на базе Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии CD19 CAR-T-клеток после режима лимфодеплеции флударабином и циклофосфамидом у 2 пациентов старше 18 лет с рефрактерным рецидивом ОЛЛ. Иные возможности консервативного лечения для этих пациентов были исчерпаны. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Республика Беларусь). Химерный рецептор 2-го поколения был сконструирован из анти-CD19 scFv-фрагмента антитела, трансмембранного домена CD28, сигнальных доменов белков 4-1BB и CD3z и трансдуцирован в Т-лимфоциты в составе лентивирусного вектора pWPXL. Клеточный продукт был получен путем сепарации и отдельного процессинга CD4- и CD8-лимфоцитов в присутствии интерлейкина-7 и интерлейкина-15. Оценивались субпопуляционный состав полученного CAR-T-клеточного продукта и экспрессия иммунных контрольных точек. Полученные результаты свидетельствуют о высокой антилейкемической активности полученных CAR-T-клеток. Выполнялся мониторинг персистенции CAR-T-клеток, определялся уровень минимальной остаточной болезни, а также спектр воспалительных цитокинов в крови. Оба пациента ответили на CAR-T-терапию снижением уровня бластных клеток. Лечение сопровождалось синдромом высвобождения цитокинов, контролируемым рекомбинантным моноклональным антителом к человеческому рецептору интерлейкина-6 – тоцилизумабом. Разработанная и воспроизведенная технология лабораторно полученных CAR-T-клеток может применяться для лечения пациентов с тяжелым рецидивным/рефрактерным В-линейным ОЛЛ в качестве терапии спасения и дать дополнительные шансы на их излечение.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, рецидив, рефрактерность, химерные антигенные рецепторы, CAR-T-клетки, синдром высвобождения цитокинов

Алейникова О.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 30–38. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-30-38

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOH»

Received 23.03.2021
Accepted 15.04.2021

The first experience of using locally manufactured CAR-T cells in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia in Belarus

O.V. Aleinikova¹, A.A. Migas¹, E.A. Stolyarova¹, A.V. Punko¹, L.V. Movchan¹, A.V. Klych¹, O.A. Mishkova¹, A.V. Hill¹, A.N. Meleshko¹, N.E. Konoplya²

¹Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Borovlyany, Minsk region, Republic of Belarus

²N.N. Alexandrov National Cancer Centre, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus

Correspondence:
Olga V. Aleinikova,
Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus,
dr. med. sci., Professor, Senior Researcher,
Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Republic of Belarus)
Address: 43 Frunzenskaya St., Borovlyany 223053, Minsk region, Republic of Belarus
E-mail: aleinikova2004@mail.ru

The results of treatment of recurrent/refractory acute lymphoblastic leukemia (ALL) with both standard and high-dose chemotherapy are unsatisfactory and require the development of new therapeutic options. The use of immunotherapy approaches opens up new perspectives for patients whose cytotoxic chemotherapy was ineffective or intolerable. This article describes the experience of using CD19 CAR-T cells manufactured at the Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology after lymphodepletion with fludarabine and cyclophosphamide in two patients over 18 years of age with refractory relapse of ALL. Other possibilities of conservative treatment for these patients have been exhausted. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Republic of Belarus). The chimeric 2nd generation receptor was constructed from the anti-CD19 scFv antibody fragment, the CD28 transmembrane domain, signaling domains of the 4-1BB and CD3z proteins, and transduced into T-lymphocytes as part of the pWPXL lentiviral vector. The cell product was obtained by separation and separate processing of CD4 and CD8 lymphocytes in the presence of IL-7 and IL-15. The subpopulation composition of the resulting CAR-T

cell product and the expression of immune checkpoints were assessed. The results obtained indicate a high antileukemic activity of the obtained CAR-T cells. Monitoring of CAR-T cells' persistence, the level of minimal residual disease, and the spectrum of inflammatory cytokines in the blood was performed. Both patients responded to CAR-T therapy by lowering their blast cell levels. Treatment was accompanied by a cytokine release syndrome controlled by a recombinant monoclonal antibody to the human IL-6 receptor, tocilizumab. The developed and replicated laboratory-derived CAR-T cell technology can be used to treat patients with severe relapsed/refractory B-line ALL as rescue therapy and provide additional chances for their cure.

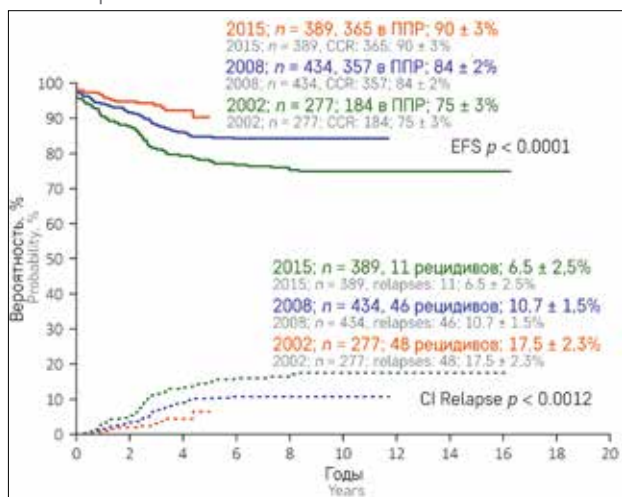
Key words: acute lymphoblastic leukemia, relapse, refractoriness, chimeric antigen receptors, CAR-T cells, cytokine release syndrome

Aleinikova O.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 30–38.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-30-38

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) в настоящее время является курабельным заболеванием у детей более чем в 90% случаев (рисунок 1).

Рисунок 1
Оптимизация терапии детей на протоколе MB в Республике Беларусь

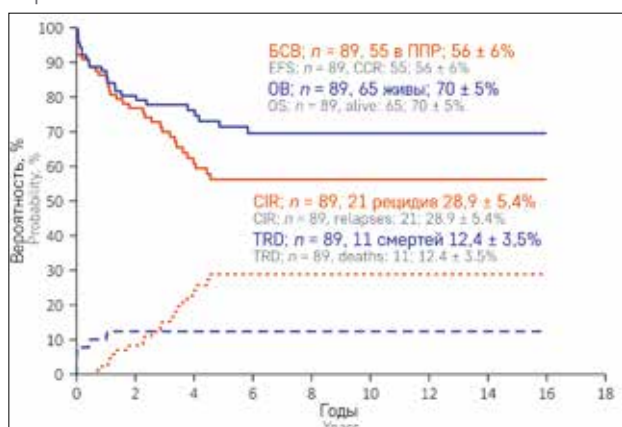
Figure 1
Therapy optimization for children on MB protocols in the Republic of Belarus



Выживаемость у подростков и молодых взрослых несколько хуже и составляет, по данным Белорусского детского канцер-субрегистра, $6 \pm 6\%$ для бессобытийной выживаемости (БСВ) и $70 \pm 5\%$ для общей выживаемости (ОВ) (рисунок 2).

Рисунок 2
Результаты выживаемости у подростков и молодых взрослых в Республике Беларусь

Figure 2
Survival outcomes in adolescents and young adults in the Republic of Belarus



Успех в лечении был достигнут путем оптимизации химиотерапии (ХТ) в первой линии на последовательных протоколах MB и улучшения сопроводительной терапии, однако у 10–15% пациентов в возрасте от 1 до 18 лет и 30–40% пациентов в возрасте от 19 до 30 лет развивается рецидив заболевания, а исходы после рецидивов ОЛЛ остаются неудовлетворительными. С помощью интенсивной комбинированной ХТ и последующей аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток можно добиться излечения от 30 до 50% всех детей с рецидивом ОЛЛ.

В последнее десятилетие появление иммунотерапии меняет терапевтические парадигмы для пациентов, у которых цитотоксическая ХТ оказалась неэффективной или непереносимой. Биспецифические активаторы Т-клеток (BiTE) – блинатумомаб или Т-клетки, экспрессирующие химерные антигенные рецепторы (CAR) могут успешно задействовать цитотоксический потенциал (аутологических или аллогенных) Т-лимфоцитов против бластных клеток пациента с острым лейкозом. Несмотря на различия в дизайне CAR, в этих испытаниях наблюдаются сходные показатели ремиссии и профили токсичности. Токсичность возникает в основном в результате гиперактивации иммунной системы, что приводит к синдрому высвобождения цитокинов (СВЦ). Тяжелый СВЦ ассоциирован с дозой CAR-T-клеток и с продвинутой стадией заболевания [1–3]. На стойкость CAR-T-клеток влияет дизайн CAR.

В данной статье мы сообщаем о нашем опыте использования локально изготовленных CD19 CAR-T-клеток после режима лимфодеплеции флударабином и циклофосфамидом у 2 молодых людей с рефрактерным рецидивом ОЛЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Республика Беларусь).

Селекция и экспансия Т-клеток

В качестве исходного материала для получения первичной культуры Т-клеток использовали

продукт афереза реципиента. Изоляцию популяций CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток проводили отдельно методом иммуномагнитной селекции с использованием соответствующих наборов CD4/CD8 Positive Isolation Kit (Thermo Fisher scientific, Норвегия). Т-клетки инкубировали в полной среде RPMI 1640 (Thermo Fisher scientific, Бразилия) с добавлением рекомбинантных цитокинов интерлейкина (ИЛ)-7 и ИЛ-15 (Miltenyi Biotec GmbH, Германия) в конечной концентрации 10 нг/мл. Активацию Т-клеток осуществляли с использованием иммуномагнитных частиц Dynabeads Human T-activator CD3/CD28 (Thermo Fisher scientific, Норвегия). Продолжительность экспансии клеточного продукта составила 13 сут, смену среды производили по достижении плотности 2×10^6 клеток/мл.

Генетическая модификация Т-клеток

Рекомбинантные псевдотипированные лентивирусные частицы, предназначенные для трансдукции Т-клеток, получали путем транзитной котрансфекции клеточной линии 293T (ATCC CRL-3216) лентивирусной системой второго поколения. Трансфер-вектор S4, полученный на основе плазмиды pWPXL (Addgene #12257), содержал бицистронную экспрессионную кассету, кодирующую последовательность CAR 2-го поколения к белку CD19 человека, а также транскрибированного варианта белка EGFR человека (рисунок 3).

В качестве пакующего вектора использовали плазмиду pCMV-dR8.91. Белок оболочки VSV-G кодировался вектором pMD2.G (Addgene #12259). Функциональный титр вирусных частиц определяли методом трансдукции клеток линии 293T серией последовательных разведений. В контроль безопасности вирусного супернатанта входило определение рекомбинантно-компетентных вирусных частиц (RCL) методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР), микробиологический контроль. Трансдукцию Т-клеток реципиента проводили в присутствии рекомбинантного фибронектина RetroNectin (Takara Bio, США). Множественность инфекции составила 5 TU/клетку.

Имунофенотипический анализ клеточного продукта

Оценку субпопуляционного состава Т-клеток осуществляли методом проточной цитометрии с

использованием антител к антигенам TIM-3, TIGIT, LAG-3, PD1, CD3, CD4, CD8, CD45, CD45RO, CCR7, CD62L, CD95 (Miltenyi Biotec GmbH, Германия). Определение функционального титра рекомбинантных лентивирусных частиц, а также уровня трансдукции Т-клеток проводили с использованием антител FAB9577R (R&D systems, США) к транскрибированному варианту белка EGFR человека.

Оценка экспансии и персистенции CAR-Т-клеток в организме реципиента

Анализ проводили на материале костного мозга и периферической крови методами проточной цитометрии (определение Т-клеток с эктопической экспрессией рекомбинантного белка EGFRt), а также количественной ПЦР с олигонуклеотидами, комплементарными последовательностям CAR.

Оценка уровня минимальной остаточной болезни

Оценку уровня минимальной остаточной болезни (МОБ) проводили методом проточной цитометрии в соответствии с описанным ранее протоколом [4], а также путем количественного определения уровня экспрессии химерного онкогена *BCR/ABL1* [5] и реаранжировок *Ig/TCR* [4].

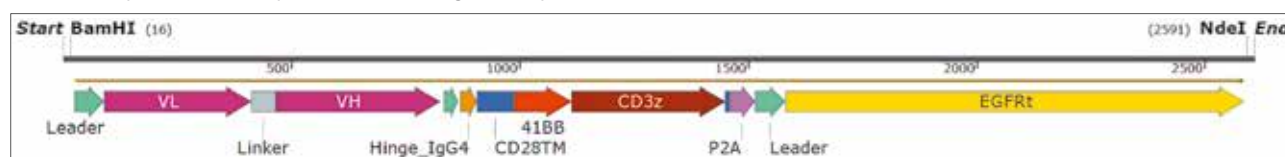
Пациенты

Пациент Б-к, 30 лет, диагноз: ОЛЛ (в костном мозге 31% бластов), L2, pre-B-иммунофенотип был установлен в июле 2019 г. В лейкоэмических клетках не было выявлено таких химерных онкогенов, как *TEL/AML*, *BCR/ABL*, *E2A/PBX1*, перестроек гена *MLL*. Согласно цитогенетическому исследованию в бластных клетках была установлена субмикроскопическая *del(12p)*, затрагивающая ген *ETV6*. Также был выявлен минорный тетраплоидный субклон лейкоэмических клеток с субмикроскопической делецией короткого плеча двух хромосом 12. Лечение заболевания проводилось по протоколу ALL MB-2015 с достижением морфологической ремиссии после окончания индукционной терапии.

Первый очень ранний изолированный костномозговой рецидив заболевания возник в августе 2020 г. (через 1 год от начала лечения на этапе консолидации 6). В рецидиве бластные клетки имели common-B-иммунофенотип, пул лейкоэмических клеток был представлен сложным кариотипом (гипо-

Рисунок 3
Генетическая карта разработанного CAR

Figure 3
Genetic map of the developed chimeric antigen receptor



плоидия в сочетании с 3 структурными aberrациями). В исследовании FISH химерный ген *TEL/AML1* не был выявлен, однако имелась делеция одной копии гена *TEL* 12p12.2 (моносомия хромосомы 12), не было перестроек генов *MLL*, *TCF3*, *IGH*, *CRLF2*, *ABL1*, *ABL2*, *NTRK3*, *PDGFRB*, *JAK2* и *ZNF384*, не выявлены инверсия *MEF2D/BCL9* и реаранжировка гена *MEF2D*, но имелась делеция второй копии генов *CRLF2*, *ABL1*, *NTRK3*, *JAK2* и *ZNF384* (моносомия хромосом Y, 9, 15 и 12). Учитывая очень ранний рецидив ОЛЛ и неблагоприятный прогноз по течению и исходу заболевания, пациенту был выполнен аферез лимфоцитов, после чего стартовала вторая линия терапии. Терапия рецидива заболевания включала 6-дневный курс профазы метилпреднизолоном, блок полихимиотерапии FLAI (флударабин, цитозар, идарубицин), однако ремиссия по основному заболеванию после проводимого лечения не была достигнута, в сентябре 2020 г. в костном мозге определялось 67,0% бластов.

В связи с тем, что все возможные методы стандартного лечения были исчерпаны, пациент имел крайне неблагоприятный прогноз по течению и исходу заболевания, единственным возможным шансом добиться ремиссии явилось проведение CAR-T-клеточной терапии.

На этапе включения в исследование по применению CAR-T-клеточной терапии у пациента отмечалось тяжелое, но компенсированное состояние, обусловленное прогрессированием основного заболевания (содержание бластов в костном мозге составило 94,5%, отмечалось увеличение печени на 5–5,5 см, селезенки – на 7–7,5 см от края реберной дуги), контролируемым инфекционным процессом (синдром системного воспалительного ответа, инфекция кровотока, вызванная *Candida guilliermondii*, *Klebsiella pneumoniae*), носительством мультирезистентной бактериальной флоры (*Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*). По данным компьютерной томографии органов грудной клетки отмечались единичные периваскулярные очаги уплотнения легочной ткани в S6 слева и S8 справа. По данным магнитно-резонансной томографии установлено кровоизлияние в головной мозг в хронической стадии, выявлены признаки лейкоэнцефалопатии, неокклюзионной внутренней и наружной гидроцефалии. Кроме того, у пациента была диагностирована тяжелая периферическая нейропатия III степени согласно критериям CTCAE 5.0.

После получения разрешения на проведение терапии в Министерстве здравоохранения Республики Беларусь, а также подписания пациентом информированного согласия была проведена CAR-T-клеточная терапия.

Пациент Б-ч, 30 лет, диагноз: Common-B-клеточный ОЛЛ, Ph⁺ был установлен в августе 2014 г.

Лечение заболевания проводилось по протоколу ALL MB-2008 + иматиниб. Изолированный костномозговой Ph⁺-рецидив I диагностирован в январе 2019 г., в связи с чем была проведена терапия второй линии, которая включала 8 блоков полихимиотерапии по протоколу Hyper CVAD + нилотиниб. В марте 2019 г. была достигнута ремиссия II. В дальнейшем пациент получал поддерживающую терапию нилотинибом. За период проводимой терапии пациенту был найден аллогенный HLA-совместимый неродственный донор для проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, однако в сентябре 2020 г. был диагностирован очередной изолированный костномозговой Ph⁺-рецидив II ОЛЛ. Пациенту был проведен блок полихимиотерапии FLAG (флударабин, цитозар), однако ремиссия не была достигнута (на 26.10.2020 в костном мозге определялось 14,2% бластов). Поскольку и в этом случае все возможные методы консервативного лечения были исчерпаны, а пациент имел крайне неблагоприятный прогноз по основному заболеванию, единственным возможным шансом добиться ремиссии также явилось проведение CAR-T-клеточной терапии. В связи с чем пациенту был выполнен аферез лимфоцитов.

На этапе включения в исследование по применению CAR-T-клеточной терапии содержание бластов в костном мозге пациента составило 73%, отмечалось увеличение печени на 1,5 см, исследуемый не являлся носителем резистентной бактериальной флоры, кроме того, после комплексного обследования у него не было выявлено очагов инфекции. После получения разрешения на проведение терапии в Министерстве здравоохранения Республики Беларусь, а также подписания пациентом информированного согласия была проведена CAR-T-клеточная терапия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Получение клеточного продукта и его функциональная характеристика

В ходе экспансии *ex vivo* Т-лимфоцитов реципиентов были получены конечные продукты в количестве, превышающем в 2 раза расчетную дозу введения. Субпопуляционный состав и содержание Т-лимфоцитов, экспрессирующих CAR, соответствовали требованиям экспериментального протокола (таблица 1).

Полученный продукт соответствовал заявленным в протоколе критериям безопасности: микробиологическая чистота, отсутствие RCL.

Экспансия и персистенция CAR⁺-Т-клеток *in vivo*

Оценку эффективности экспансии и персистенции Т-лимфоцитов, экспрессирующих CAR к

Таблица 1

Характеристика конечного клеточного продукта

Table 1

Characterization of the final cell product

Параметр Parameter	Реципиент Recipient			
	Б-ч B-ch		Б-к B-k	
	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺
Общий прирост (разы) A total increase (fold)	187	180	167	44
Уровень трансдукции (% EGFRt ⁺ -клеток) The level of transduction (% of EGFRt ⁺ cells)	27	20	30	18
Субпопуляционный состав (%): Subpopulation composition (%):				
стволовые клетки памяти memory stem cells	2,1	11	5,1	27,8
центральные клетки памяти central memory cells	25,3	48	50,2	59,3
эффекторные клетки памяти effector memory cells	65,5	29,1	42,6	12,5
терминальные эффекторы terminal effectors	7,1	11,9	2	0,3
Экспрессия рецепторов иммунных контрольных точек (%): The expression of immune checkpoints receptors (%):				
TIM-3	97,4	99,9	Нет данных No data available	Нет данных No data available
TIGIT	5,8	10,1	Нет данных No data available	Нет данных No data available
LAG-3	0,5	1,1	Нет данных No data available	Нет данных No data available
PD1	1,5	0,2	Нет данных No data available	Нет данных No data available

белку CD19 человека, проводили на материале костного мозга и периферической крови реципиента на контрольных точках, обозначенных в экспериментальном протоколе.

Для пациента Б-к содержание CAR-T-клеток по данным иммунофенотипирования на 5-е сутки от начала терапии составляло 15%, на 8-е сутки – 97,6% всех Т-клеток периферической крови.

В случае пациента Б-ч согласно данным иммунофенотипирования (рисунки 4А, Б), а также количественной ПЦР (рисунок 4В) пик экспансии CAR⁺-клеток пришелся на 14–22-й дни от момента введения клеточного продукта.

Мониторинг уровня минимальной остаточной болезни

Для пациента Б-к удалось зафиксировать снижение количества CD45⁺, CD19⁺, CD20⁺-клеток в материале периферической крови с 70% на день 0 до 0,01% уже на день 5 после введения клеточного продукта, на 8-е сутки содержание целевой популяции опустилось ниже порога определения (0,01%).

У пациента Б-ч по данным иммунофенотипического анализа уровень МОБ опустился ниже порога определения (0,01%) уже на 16-е сутки от момента введения клеточного продукта как в периферической крови, так и в костном мозге (рисунок 5).

Количественное определение транскрипта химерного онкогена *BCR/ABL1* в материале костного мозга реципиента Б-ч продемонстрировало устойчивое снижение показателя МОБ (рисунок 6). К 56-му дню от начала проведения CAR-T-терапии снижение

составило более 4 логарифмов от начального значения. Анализ МОБ для пациента Б-ч выполнялся по клональным реаранжировкам *TCRG* и делеции *Vk-KDE* и показал отрицательное значение МОБ на 56-й и 70-й дни после инфузии CAR-T [6].

Оба пациента имели высокий бластоз в костном мозге на момент трансфузии CAR-T-клеток. У обоих пациентов после введения CAR-T-клеток развились токсические осложнения, характерные для данного вида терапии. Так, СВЦ развился у обоих пациентов, несмотря на профилактическое введение им тоцилизумаба в день 0 в дозе 8 мг/кг.

Пациент Б-к развил СВЦ III степени тяжести на 5-е сутки, включая гемодинамическую нестабильность, требующую болюсов внутривенной жидкости, вазопрессоров и неинвазивной искусственной вентиляции легких. После введения 2 доз тоцилизумаба 8 мг/кг с интервалом 8 ч состояние пациента несколько стабилизировалось, однако после кратковременного улучшения возникли признаки прорывной инфекции, септического шока и на 10-е сутки пациент умер. На аутопсии обнаружены тотальный геморрагический некроз легкого, признаки нарушения кровообращения и септические очаги преимущественно в виде эмболов из мицелия гриба *Mucor corymbifera*. При бактериологическом исследовании выявлены *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*. В костном мозге обнаружено небольшое количество бластов в состоянии некробиоза.

У пациента Б-ч СВЦ II степени тяжести манифестировал на 8-й день лихорадкой и падением сатурации O₂. После введения 1 дозы тоцилизумаба

Рисунок 4

Экспансия и персистенция CAR⁺-Т-клеток *in vivo* (пациент Б-ч): А, Б – данные иммунофенотипирования; В – количественная ПЦР

Figure 4

Expansion and persistence of CAR⁺-T cells *in vivo* (patient B-ch): A, B – immunophenotyping data; B – quantitative PCR results

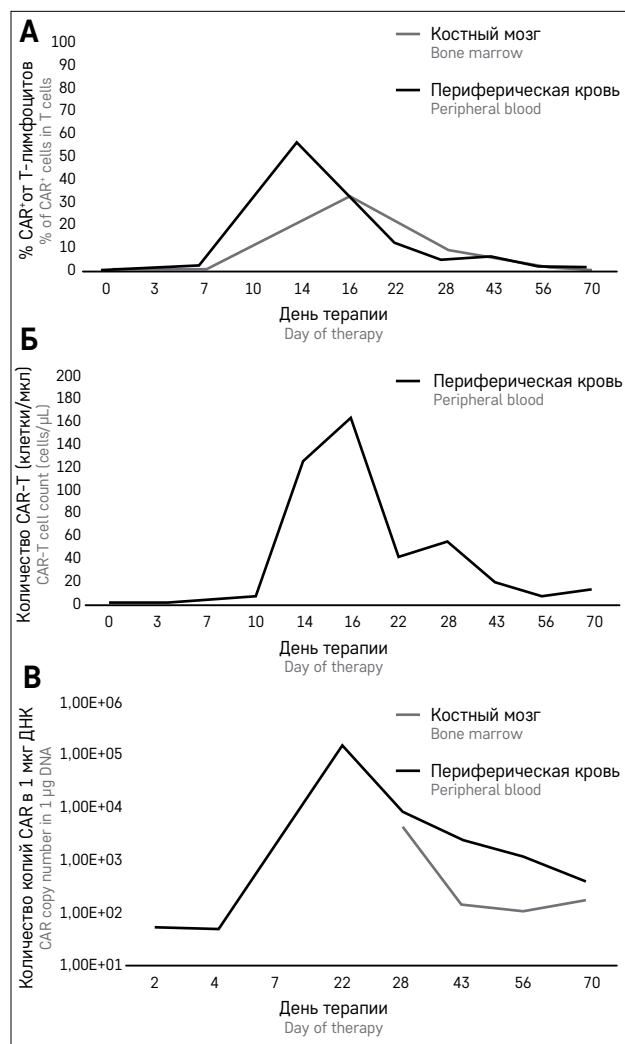


Рисунок 5

Оценка уровня МОБ методом иммунофенотипирования, пациент Б-ч

Figure 5

Minimal residual disease (MRD) assessment by immunophenotyping, patient B-ch

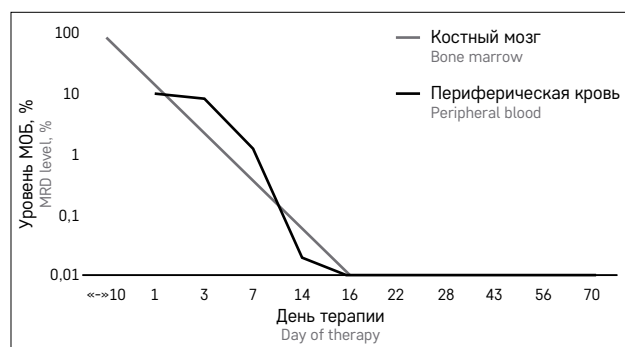
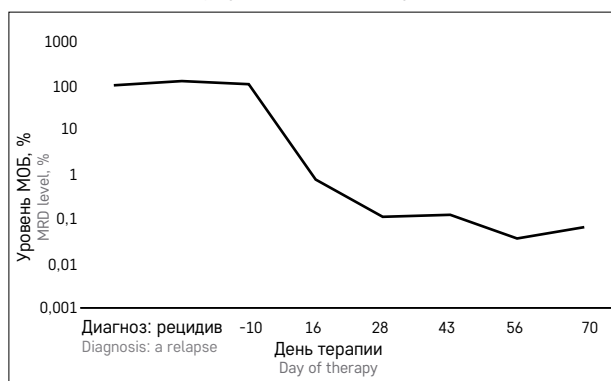


Рисунок 6

Оценка уровня МОБ методом количественной ПЦР, пациент Б-ч

Figure 6

MRD assessment by quantitative PCR, patient B-ch



состояние пациента стабилизировалось. На 10-й день от момента инфузии CAR-T-клеток у пациента развилась нейротоксичность II степени согласно критериям CTCAE 5.0, которая проявлялась делирием с нарушением ориентации во времени и пространстве, снижением когнитивных функций с расстройством сознания. Неврологические нарушения были купированы назначением дексаметазона 10 мг каждые 6 ч в течение 4 дней и леветирацетама в терапевтической дозе.

На 70-й день от момента трансфузии CAR-T-клеток пациент Б-ч находится в полной молекулярной ремиссии: *BCR/ABL* p190 – $6,6 \times 10^{-4}$, МОБ по мишеням *Ig/TCR* – отрицательно. Пациент готовится к трансплантации костного мозга от неродственного донора. Клинические характеристики пациентов приведены в таблице 2.

Проведенное нами исследование спектра цитокинов у обоих пациентов (таблица 3) показало, что, начиная со 2-го дня от момента введения CAR-T-клеток, уровень всех ежедневно исследуемых цитокинов повышался к моменту проявления клинических симптомов СВЦ, особенно ИЛ-2R и ИЛ-6. Эти показатели могут быть хорошими биомаркерами начинающегося СВЦ для своевременного его купирования рекомбинантным моноклональным антителом к человеческому рецептору ИЛ-6 – тоцилизумабом.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты лечения рецидивного/рефрактерного ОЛЛ с помощью как стандартной, так и высокодозной ХТ являются неудовлетворительными и требуют разработки новых терапевтических опций. Клеточная терапия, а именно адаптивные Т-лимфоциты, экспрессирующие CAR, становится эффективным методом лечения этих пациентов. Идея адаптивной иммунотерапии с использованием лимфоцитов возникла в начале 1990-х годов. Многие

Таблица 2
Клиническая характеристика пациентов

Table 2
Clinical characteristics of the patients

Параметр Parameter	Пациент Б-к Patient B-k	Пациент Б-ч Patient B-ch
Возраст, годы Age, years	30	30
Диагноз Diagnosis	В-клеточный ОЛЛ, рецидив I B-cell ALL, relapse I	В-клеточный ОЛЛ, Ph ⁺ , рецидив II B-cell ALL, Ph ⁺ , relapse II
Бласты костного мозга на момент проведения CAR-T, % Bone marrow blasts at the time of CAR-T, %	94,5	73
Инфекция на момент проведения CAR-T Infections at the time of CAR-T	Сепсис Sepsis	–
СВЦ: Cytokine release syndrome: начало onset длительность duration	III степень Grade III 5-е сутки Day 5 3 дня 3 days	II степень Grade II 8-е сутки Day 8 2 дня 2 days
Нейротоксичность: Neurotoxicity: начало onset длительность duration	–	II степень Grade II 10-й день Day 10 4 дня 4 days
Костный мозг на день 14 Bone marrow on Day 14	–	Миелокарициты – 3×10^9 , бласты – 0 Myelokaryocytes – 3×10^9 , blasts – 0
Костный мозг на день 28 Bone marrow on Day 28	–	Миелокарициты – $52,0 \times 10^9$, бласты – 0,75 Myelokaryocytes – $52,0 \times 10^9$, blasts – 0.75

Таблица 3
Спектр цитокинов у пациентов Б-к и Б-ч

Table 3
The spectrum of cytokines in the patients B-k and B-ch

Пациент Patient	Показатель Parameter	Нормальные значения Normal range	День Day								
			–1	2	3	5	7	9	10	11	13
Б-к B-k	ИЛ-1b, пг/мл IL-1B, pg/ml	< 5		15,8	8,58		15	–	127	–	–
	ИЛ-2R, Е/мл IL-2R, U/ml	223–710		4080	5222		> 7500	–	> 7500	–	–
	ИЛ-6, пг/мл IL-6, pg/ml	< 5,9		9995	18778		1405	–	347 000	–	–
	ИЛ-8, пг/мл IL-8, pg/ml	< 62		5730	7500		1075	–	7500	–	–
	ИЛ-10, пг/мл IL-10, pg/ml	< 9,1		15,5	15,5		23,3	–	1000	–	–
	ФНО-α, пг/мл TNF-α, pg/ml	< 8,1		44,3	68,3		20,2	–	204	–	–
Тоцилизумаб, 8 мг/кг Tocilizumab, 8 mg/kg			 								
Б-ч B-ch	ИЛ-1b, пг/мл IL-1B, pg/ml	< 5	–	< 5	< 5		< 5	7,05	14,8	< 5	< 5
	ИЛ-2R, Е/мл IL-2R, U/ml	223–710	–	813	1527		2763	5735	> 7500	6961	3410
	ИЛ-6, пг/мл IL-6, pg/ml	< 5,9	< 2	302	206		253	3373	6167	146	6,3
	ИЛ-8, пг/мл IL-8, pg/ml	< 62	< 5	35,8	25,8		32,8	191	443	113	34,2
	ИЛ-10, пг/мл IL-10, pg/ml	< 9,1	< 5	8,72	49		296	623	192	39,5	5
	ФНО-α, пг/мл TNF-α, pg/ml	< 8,1	–	13,7	18,4		20,8	47,7	44,1	13,8	6,54

Примечание. ФНО-α – фактор некроза опухоли-α.
Notes. IL – interleukin; TNF-α – tumor necrosis factor α.

ведущие североамериканские центры, такие как Мемориальный онкологический центр Слоун Кеттеринг (MSKCC), Университет Пенсильвании (UPenn), Детская больница Филадельфии (CHOP), Онкологический исследовательский центр Фреда Хатчинсона (FHCRC) и Национальный институт рака (NCI) разработали продукты CAR-T и приступили к их

клиническим испытаниям в терапии В-клеточных злокачественных новообразований. В 2012 г. UPenn был первым, где создали исследовательский альянс с фармацевтической компанией для разработки коммерческого продукта CAR-T-клеток [7].

По последним оценкам, общая стоимость продуктов CAR-T-клеточной терапии, созданных с

использованием существующих производственных подходов, составляет 150 000–475 000 долларов [3].

CAR-T-продукты могут производиться с использованием ручной обработки, которая является трудоемкой и сложно масштабируемой, однако значительно менее затратной. В основном это связано с индивидуальным характером терапии CAR-T в сочетании с отсутствием технологий мелкомасштабного производства, предназначенных для клеточной терапии, а также с необходимостью быстрого получения материала для ранней фазы испытаний. По такому пути пошли некоторые центры, имеющие соответствующие лаборатории, такие как Медицинский центр Шиба (Израиль) [8]. В Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии (Республика Беларусь) 1 июня 2019 г. была открыта новая лаборатория генетических биотехнологий, которая предназначена для производства биологических продуктов (вакцины, клеточные продукты) для лечения злокачественных новообразований. Одной из главных задач явилась отработка технологической схемы мануального изготовления CAR-T-лимфоцитов на первом этапе, их полномасштабное тестирование и проведение клинического испытания. На втором этапе возможно автоматизированное производство клеточного продукта на биореакторах открытого типа.

Полученные нами результаты свидетельствуют о высокой антилейкемической активности полученных CAR-T-клеток. Так, пациент Б-ч на 70-й день от момента трансфузии CAR-T-клеток находится в полной молекулярной ремиссии: *BCR/ABL* p190 – $6,6 \times 10^{-4}$, МОБ по мишеням *Ig/TCR* – отрицательно. На аутопсии пациента Б-к в костном мозге обнаружено небольшое количество бластов в состоянии некробиоза, несмотря на то, что он умер на 10-е сутки от введения CAR-T-клеток. Высокую антилейкемическую активность CAR-T-клеток отмечают многие исследователи [9, 10] даже после неудачной терапии ОЛЛ блинатумомабом [8].

У обоих наших пациентов развился СБЦ, потребовавший введения рекомбинантного моноклонального антитела – тоцилизумаба, эффективность которого была показана купированием клинических проявлений СБЦ и нормализацией уровня цитокинов. СБЦ наблюдается у некоторых пациентов после других иммунобиологических препаратов, включая ритуксимаб, муромонаб и блинатумомаб, но он встречается почти у всех пациентов, успешно пролеченных CAR-T-клетками [4, 5, 11]. Признаки и симптомы СБЦ возникают вторично по отношению к экспансии CAR-T-клеток и активации иммунной системы, начиная от легких конституциональных симптомов лихорадки и миалгии до тяжелых угрожающих жизни

последствий, включая резистентную к жидкости гипотензию и полиорганную дисфункцию, требующую интенсивной терапии. Тяжесть СБЦ коррелирует с повышением уровня нескольких ключевых цитокинов, включая интерферон- γ , ИЛ-6, ИЛ-5, ИЛ-10 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор [1, 12].

Симптомы СБЦ могут имитировать синдром системной воспалительной реакции. Хотя большинство лихорадок, наблюдаемых у пациентов с СБЦ, связано с высвобождением провоспалительных цитокинов, а не с сепсисом, сопутствующие неконтролируемые инфекции могут усугублять СБЦ и приводить к смерти пациентов [2, 13]. В нашем случае пациент Б-ч на момент проведения терапии CAR-T-клетками имел контролируемый инфекционный процесс (синдром системной воспалительной реакции, инфекцию кровотока, вызванную *Candida guilliermondii*, *Klebsiella pneumoniae*) и являлся носителем мультирезистентной бактериальной флоры (*Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*), что усугубило его состояние и привело к летальному исходу на 10-е сутки после трансфузии CAR-T. На аутопсии был обнаружен недиагностированный прижизненно *Mucor*. Таким образом, терапию CAR-T-клетками следует проводить пациентам при отсутствии у них системного инфекционного процесса, а всех больных с CAR-T-клетками, у которых развивается лихорадка, следует лечить от потенциальной инфекции [11].

Нейротоксичность – еще одно распространенное осложнение, связанное с терапией CAR-T-клетками, которое возникает у некоторых пациентов даже без выявленного заболевания центральной нервной системы. Если СБЦ обычно проявляется через 1–7 дней после инфузии CAR-T, то начало проявления симптомов нейротоксичности менее предсказуемо, но обычно происходит после начала СБЦ. Симптомы сильно различаются: от легкой дезориентации, зрительных галлюцинаций до тревожных расстройств [2, 14]. У пациента Б-ч нейротоксичность II степени развилась на 10-е сутки и проявилась делирием с нарушением ориентации во времени и пространстве, снижением когнитивных функций с расстройством сознания.

Современные методы лечения нейротоксичности, вызванной CAR, направлены на ослабление воспалительной реакции. Тоцилизумаб не проникает через гематоэнцефалический барьер и не может действовать на рецепторы ИЛ-6 в центральной нервной системе. В то время как анти-ИЛ-6-терапия показана для лечения нейротоксичности у пациентов с сопутствующим тяжелым СБЦ, больных с нейротоксичностью в отсутствие тяжелого СБЦ, для пациентов с продолжающейся тяжелой нейротоксичностью после

лечения тоцилизумабом или силтуксимабом показаны высокие дозы кортикостероидов [15, 16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение мы можем констатировать, что разработанная и воспроизведенная технология лабораторно полученных CAR-T-клеток может применяться для лечения пациентов с тяжелым рецидивным/рефрактерным В-линейным ОЛЛ в качестве

терапии спасения и дать дополнительные шансы на их излечение.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Aleinikova O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0143-1921>

Литература

- Teachey D.T., Lacey S.F., Shaw P.A., Melenhorst J.J., Maude S.L., Frey N., et al. Identification of predictive biomarkers for cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Discov* 2016; 6 (6): 664–79. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0040
- Fitzgerald J.C., Weiss S.L., Maude S.L., Barrett D.M., Lacey S.F., Melenhorst J.J., et al. Cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Crit Care Med* 2017; 45 (2): e124–31. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002053
- Walker A., Johnson R. Commercialization of cellular immunotherapies for cancer. *Biochem Soc Trans* 2016; 44: 329–32.
- Winkler U., Jensen M., Manzke O., Schulz H., Diehl V., Engert A. Cytokine-release syndrome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia and high lymphocyte counts after treatment with an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab, IDEC-C2B8). *Blood* 1999; 94 (7): 2217–24.
- Bugelski P.J., Achuthanandam R., Capocasale R.J., Treacy G., Bouman-Thio E. Monoclonal antibody-induced cytokine-release syndrome. *Expert Rev Clin Immunol* 2009; 5 (5): 499–521. DOI: 10.1586/eci.09.31
- Meleshko A.N., Savva N.N., Fedasenko U.U., Romancova A.S., Krasko O.V., Eckert C., et al. Prognostic value of MRD-dynamics in childhood acute lymphoblastic leukemia treated according to the MB-2002/2008 protocols. *Leuk. Res* 2011; 35 (10): 1312–20. DOI: 10.1016/j.leukres.2011.04.013
- Vairy S., Garcia J.L., Teira P., Bittencourt H. CTL019 (tisagenlecleucel): CAR-T therapy for relapsed and refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Drug Des Devel Ther* 2018; 12: 3885–98.
- Jacoby E., Bielora B., Avigdor A., Itzhaki O., Hutt D., Nussboim V., et al. Locally produced CD19 CAR T cells leading to clinical remissions in medullary and extramedullary relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Am J Hematol* 2018; 93 (12): 1485–92. DOI: 10.1002/ajh.25274. Epub 2018 Sep 26. PMID: 30187944.
- Martino M., Alati C., Canale F.A., Musuraca G., Martinelli G., Cerchione C. A Review of Clinical Outcomes of CAR T-Cell Therapies for B-Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Mol Sci* 2021; 22 (4): 2150. DOI: 10.3390/ijms22042150
- Aamir S., Anwar M.Y., Khalid F., Irfan Khan S., Ashar Ali M., Ehsan Khattak Z. Systematic Review and Meta-analysis of CD19-Specific CAR-T Cell Therapy in Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia in the Pediatric and Young Adult Population: Safety and Efficacy Outcomes. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2020; 21 (4): e334–47. DOI: 10.1016/j.clml.2020.12.010
- Teachey D.T., Rheingold S.R., Maude S.L., Zugmaier G., Barrett D.M., Seif A.E., et al. Cytokine release syndrome after blinatumomab treatment related to abnormal macrophage activation and ameliorated with cytokine-directed therapy. *Blood* 2013; 121 (26): 5154–7. DOI: 10.1182/blood-2013-02-485623
- Lee D.W., Gardner R., Porter D.L., Louis C.U., Ahmed N., Jensen M., et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood* 2014; 124 (2): 188–95.
- Frey N.V., Levine B.L., Lacey S.F., Grupp S.A., Maude S.L., Schuster S.J., et al. Refractory cytokine release syndrome in recipients of chimeric antigen receptor (CAR) T cells. *Blood* 2014.
- Maude S.L., Frey N., Shaw P.A., Aplenc R., Barrett D.M., Bunin N.J., et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371 (16): 1507–17.
- Neelapu S.S., Tummala S., Kebriaei P., Wierda W., Gutierrez C., Locke F.L., et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy – assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol* 2018; 15 (1): 47–62. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.148
- Vormittag P., Gunn R., Ghorashian S., Veraitch F.S. A guide to manufacturing CAR T cell therapies. *Curr Opin Biotechnol* 2018; 53: 164–81. DOI: 10.1016/j.copbio.2018.01.025. Epub 2018 Feb 18. PMID: 29462761.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 23.03.2021
Принята к печати 14.04.2021

10.24287/1726-1708-2021-20-2-40-45

Результаты применения кондиционирования с треосульфаном перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с анемией Даймонда–Блекфена

С.А. Радыгина, С.Н. Козловская, А.П. Васильева, И.П. Шипицына, А.А. Богоявленская, Г.С. Овсянникова, Л.Н. Шелихова, Ю.В. Скворцова, Д.Н. Балашов, М.А. Масчан

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Радыгина Светлана Анатольевна,
врач-гематолог отделения
трансплантации гемопоэтических
стволовых клеток №2 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: ra-svet-7@yandex.ru

Режимы кондиционирования перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) на основе бусульфана на протяжении долгого времени являются стандартом для пациентов с анемией Даймонда–Блекфена (АДБ). К сожалению, высокая частота токсических осложнений является причиной ТГСК-ассоциированной летальности или снижения качества жизни пациентов. Применение треосульфана для кондиционирования является привлекательным, однако данные о его использовании при АДБ крайне ограничены. Опыт применения треосульфана для ТГСК у пациентов с АДБ, в том числе в сочетании с новыми подходами к профилактике реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева представлен в данной публикации. Данное исследование одобрено локальным этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. С 2012 по 2020 г. проведено 9 аллогенных ТГСК пациентам с АДБ, 7 из которых получили трансплантат от неродственного донора, 1 – от гаплоидентичного, 1 – от HLA-идентичного сиблинга. Всем пациентам проводилось кондиционирование с треосульфаном. У 3 пациентов в качестве источника гемопоэтических стволовых клеток использовался костный мозг, у 6 – периферическая кровь после $TCR\alpha\beta^+/CD19^+$ -деплеции с помощью иммуномагнитного метода. У 8 пациентов проводились различные режимы посттрансплантационной профилактики РТПХ на основе блокаторов кальциневрина, в 1 случае – монотерапия микофенолата мофетилем. Приживление трансплантата достигнуто у всех пациентов. Восемь пациентов живы с медианой наблюдения 35,6 мес. Один пациент (индекс Карновского 40% до ТГСК) умер на +58-й день от полиорганной недостаточности, обусловленной токсическими и инфекционными осложнениями. Еще 3 пациента имели клинически значимые токсические осложнения: 1 – мукозит III степени, 2 – тяжелую треосульфановую токсикодермию, 1 – веноокклюзионную болезнь печени средней степени тяжести. Острая РТПХ II стадии выявлена у 5 пациентов с полным ответом на первую линию терапии. Тяжелой острой РТПХ (> II стадии) и хронической РТПХ не зарегистрировано. Использование треосульфана в кондиционировании, а также новые возможности клеточного инжиниринга трансплантата, по нашим данным, являются эффективными опциями для улучшения результатов ТГСК у пациентов с АДБ.

Ключевые слова: анемия Даймонда–Блекфена, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, треосульфан, кондиционирование, токсичность

Радыгина С.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 40–45. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-40-45

Treosulfan-based conditioning for hematopoietic stem cell transplantation in patients with Diamond–Blackfan anemia

S.A. Radygina, S.N. Kozlovskaya, A.P. Vasilieva, I.P. Shipitsina, A.A. Bogoyavlenskaya, G.S. Ovsyannikova, L.N. Shelikhova, Yu.V. Skvortsova, D.N. Balashov, M.A. Maschan

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Svetlana A. Radygina,
hematologist, Hematopoietic Stem Cell
Transplantation Department №2, Dmitry
Rogachev National Medical Research
Center of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology, Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: ra-svet-7@yandex.ru

Busulfan-based conditioning regimens before hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in patients with Diamond–Blackfan anemia (DBA) are the standard therapy for a long time. Unfortunately, the high incidence of toxic complications is the cause of transplant-related mortality (TRM) or low quality of life. Treosulfan-based conditioning is very attractive, however only limited data exists of its administration in DBA patients. In this article, we present the experience of treosulfan usage along with novel approaches to “graft versus host” disease (GVHD) prophylaxis in Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. The study was approved by the Independent Ethics Committee of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. From 2012 to 2020, 9 patients with DBA underwent HSCT. Matched unrelated donors were used in 7 patients, mismatched related in 1, and HLA-identical sibling in 1 patient. All patients received treosulfan-based conditioning. The sources of HSC were bone marrow ($n = 3$) and peripheral blood after $TCR\alpha\beta^+/CD19^+$ graft depletion ($n = 6$). Eight patients received various regimens of post-transplant prophylaxis, included calcineurin inhibitors alone or in combinations, 1 patient – mycophenolate mofetil. All transplanted patients engrafted. Median follow-up in survivors ($n = 8$) was 35.6 months. One patient (Karnofsky-index before HSCT 40%) died on day +58 due to multio-

rgan failure, caused by toxic and infectious complications. Besides, three patients had clinically significant toxic complications: oral mucositis grade 3 in 1 patient, treosulfan skin toxicity in 2, and moderate veno-occlusive-disease in 1 patient. Five patients had acute GVHD grade II with complete response to the 1st line therapy. There was no evidence of acute GVHD grade III–IV as well as chronic GVHD. Our data demonstrate, that treosulfan-based conditioning, alongside new cellular engineering approaches is effective options for HSCT outcomes in patients with DBA.

Key words: Diamond–Blackfan anemia, hematopoietic stem cell transplantation, treosulfan, conditioning, toxicity

Radygina S.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 40–45.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-40-45

Анемия Даймонда–Блекфена (АДБ) – редкая форма врожденной парциальной красноклеточной аплазии кроветворения раннего и детского возраста, встречается в 6–7 случаях на 1 млн живых новорожденных. Заболевание развивается в результате апоптоза эритроидных предшественников в костном мозге вследствие дефекта биосинтеза рибосом [1]. Впервые АДБ была описана Hugh W. Joseph в 1936 г. как «анемия раннего возраста» [2], а в 1938 г. Louis Diamond и Kenneth Blackfan выделили ее в отдельную нозологическую единицу [3]. С 2005 г. АДБ признана первой рибосомопатией человека, так как выявлено, что она является результатом гетерозиготных мутаций или делеций в генах, кодирующих рибосомные белки (RPs) малой или большой субъединицы рибосомы [4, 5]. На сегодняшний день идентифицировано 23 гена *RP*, участвующих в патогенезе этого заболевания. Выявлены также единичные случаи АДБ в результате мутации генов *GATA1*, *FLVCR1* и *TFR2*. Однако в 30% случаев мутации не выявляются [6]. В 90% случаев АДБ диагностируется в возрасте до 1 года, медиана возраста постановки диагноза составляет 2 месяца. Клинически классическая АДБ характеризуется макроцитарной анемией с ретикулоцитопенией, снижением или отсутствием эритроидных предшественников в костном мозге, повышением фетального гемоглобина и активности эритроцитарной аденозиндезаминазы. Половина больных имеют врожденные пороки развития [7]. Кроме того, пациенты с АДБ имеют значительный риск развития злокачественных заболеваний, в частности миелодиспластического синдрома (МДС), острого миелоидного лейкоза, карциномы толстой кишки, остеосаркомы и злокачественных новообразований урогенитального тракта у лиц женского пола [8, 9].

Основным методом лечения пациентов с АДБ уже на протяжении 50 лет остаются глюкокортикостероиды (ГКС) и заместительные гемотрансфузии эритроцитарной взвеси. Однако эти методы несовершенны и, как известно, имеют тяжелые побочные эффекты. На фоне длительной терапии ГКС у пациентов развиваются задержка роста, стероидная катаракта, остеопороз, высокий риск развития инфекционных осложнений [10]. Регулярные заместительные гемотрансфузии приводят к посттрансфузионной перегрузке железом печени, сердца и эндокринных органов, которые могут нести жизне-

угрожающие последствия [11]. Большая часть (80%) пациентов изначально имеют ответ на терапию ГКС. Однако в дальнейшем только 40% остаются трансфузионно-независимыми на безопасных дозах гормонов в течение длительного времени [10]. В большинстве рекомендаций безопасными дозами ГКС являются 0,3–0,5 мг/кг/день [12]. Резистентность к ГКС определяется как неадекватный прирост ретикулоцитов после 2 попыток терапии преднизолоном в дозе 1 мг/кг/день [13]. Альтернативные методы лечения (эритропоэтин, метоклопрамид, циклоспорин, интерлейкин-3, лейцин) не показали своей эффективности или имеют ограниченную эффективность и в настоящее время не входят в стандарты лечения [14–16]. Единственным радикальным методом лечения гематологического фенотипа АДБ является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [16–18].

Однако эта опция не является первой линией терапии и часто проводится только как терапия спасения при развитии МДС или острого миелоидного лейкоза, формировании тяжелой посттрансфузионной перегрузки железом при непереносимости хелаторной терапии и развитии аллоиммунизации к эритроцитарным антигенам. Это обусловлено высокими рисками тяжелой ранней и отсроченной токсичности при применении миелоаблативного кондиционирования у пациентов с АДБ и тем, что у 20% больных может наступить спонтанная ремиссия на любом сроке заболевания. Ограничение применения немиелоаблативных режимов кондиционирования, в свою очередь, объясняется риском неприживления и вторичной недостаточности трансплантата в связи с собственным активным гемопоэзом и аллоиммунизацией вследствие многократных гемотрансфузий. К тому же длительное время хорошие результаты аллогенной ТГСК у пациентов с АДБ были продемонстрированы только при использовании HLA-совместимого родственного донора, а трансплантация от альтернативного донора приводила к худшим результатам, что нередко и ограничивало частоту их использования при АДБ [19, 20]. Последние же более крупные исследования показали отсутствие различий в исходе ТГСК при применении родственных и неродственных доноров и высокий процент общей выживаемости [21].

Уменьшение риска и тяжести токсических и иммуноопосредованных осложнений является

сегодня одной из приоритетных задач, направленных на улучшение качества жизни после проведенного лечения. Это может быть решено с помощью использования менее токсичных режимов кондиционирования и современных подходов к профилактике реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Опыт реализации данного стратегического направления за 10 лет существования трансплантационной программы для пациентов с АДБ в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева представлен в данной публикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено локальным этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. С июля 2012 по март 2020 г. в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева проведено 9 аллогенных ТГСК пациентам с АДБ. Соотношение мальчиков к девочкам составило 6:3, медиана возраста 6,3 (размах 0,98–12,6) года. Показанием к ТГСК у 1 пациента являлся вторичный миелодиспластический синдром, в остальных случаях – стероид-резистентная анемия. У 6 из 8 больных, которым было выполнено молекулярно-генетическое исследование, выявлены рибосомные мутации: *RPS19* ($n = 2$), *RPS29* ($n = 2$) и *RPS10* ($n = 1$), *RPL31* ($n = 1$).

В составе консервативной терапии до ТГСК все пациенты получали ГКС, а в 5 случаях проводилась терапия L-лейцином. К моменту ТГСК все пациенты имели посттрансфузионную перегрузку железом с уровнем сывороточного ферритина от 567 до 2974 (медиана – 1485) мг/л. Источником гемопоэтических стволовых клеток у 3 пациентов был костный мозг от неродственного совместимого донора (HLA 10/10, $n = 1$; HLA 9/10, $n = 1$) и родственного HLA-идентичного сиблинга ($n = 1$). Остальные 6 пациентов в качестве источника трансплантата получили мобилизованные гранулоцитарным колониестимулирующим фактором периферические стволовые клетки крови (ПСКК): 5 – от неродственного совместимого донора (9/10, $n = 1$; 10/10, $n = 4$), 1 – от гаплоидентичного родственного донора. У всех пациентов, получавших ПСКК, проводилась TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺-деплеция трансплантата с помощью иммуномагнитного метода (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Германия).

В качестве предтрансплантационной подготовки 8 пациентов получили миелоаблативное кондиционирование с редуцированной токсичностью на основе треосульфана: 6 больных – треосульфан 42 г/м² + тиотепа 10 мг/кг + флударабин 150 мг/м², 2 пациента – треосульфан 42 г/м² + мелфалан 140 г/м² + флударабин 150 мг/м². У 1 пациента при проведении родственной совместимой трансплантации в качестве алкилирующего агента использовался только треосульфан 36 г/м² + флударабин

150 г/м². Восемь пациентов получали серотерапию Тимоглобулином (Джензайм Поликлоналс С.А.С., Франция). Для профилактики посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр, и десенсибилизации, ассоциированной с высокой трансфузионной нагрузкой, пациенты получали ритуксимаб 100–375 мг/м². Посттрансплантационная медикаментозная профилактика РТПХ после TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺-деплеции трансплантата у 5 человек включала с себя ингибиторы кальциневрина (ИК) (3 – монотерапия, 1 – в сочетании с микофенолата мофетилем (ММФ) и абатацептом, 1 – в сочетании с тоцилизумабом и абатацептом), 1 пациент получал только ММФ. При использовании неманипулированного костного мозга в качестве посттрансплантационной профилактики РТПХ использовались ИК + ММФ ($n = 1$), ИК + ММФ + абатацепт + тоцилизумаб ($n = 1$), циклофосфан 100 мг/кг на +3-й, +4-й дни + ММФ + ИК ($n = 1$). Характеристика пациентов представлена в таблице.

Приживлением трансплантата считалось достижение уровня нейтрофилов > 500 тыс/мкл в течение последующих 3 дней и тромбоцитов > 20 тыс/мкл в течение последующих 5 дней. Классификация и стадирование РТПХ проводились в соответствии с Seattle-критериями [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первичное приживление трансплантата зафиксировано у всех больных. Восемь пациентов живы с медианой наблюдения 40,4 (межквартильный размах 32,1–61,6) мес после ТГСК. Один пациент (с общим состоянием по шкале Карновского 40% до ТГСК) умер на +58-й день после ТГСК от полиорганной недостаточности, обусловленной синдромом эндотелиального повреждения (с поражением почек и печени), синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания и инфекционными осложнениями (бактериальный сепсис и аденовирусная инфекция). Еще 3 пациента имели клинически значимые токсические осложнения в раннем посттрансплантационном периоде: 1 – мукозит III степени, 2 – тяжелую треосульфановую токсикодермию, 1 – веноокклюзионную болезнь печени средней степени тяжести. Острая РТПХ II стадии была диагностирована у 5 пациентов (2 – после ТГСК с TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD19⁺-деплеции трансплантата, у 3 – после ТГСК с неманипулированным трансплантатом) с полным ответом на первую линию терапии. Тяжелой острой РТПХ (> II стадии) и хронической РТПХ у данной группы пациентов не отмечалось. Шесть из 8 больных не нуждались в иммуносупрессивной терапии после ТГСК. У 1 пациента после +100-х суток отмечалось

Таблица
Характеристика пациентов и особенности проведенной ТГСК

Table
Patient characteristics and HSCT features

№	Пол Gender	Возраст, годы Age, years	Клини- ческий фено- тип Clinical features	Генети- ческая мута- ция Gene mutation	Ферритин до ТГСК, мг/л Ferritin before HSCT, mg/l	Тип донора Donor type	Трансплантат, (TCRαβ- деплеция) Graft, (TCRαβ-depletion)	Кондиционирование Conditioning regimen	Профилек- тика РТПХ GVHD prophylaxis	Время наблюдения (мес), исход Outcome (months), alive or death
1	Женский Female	0,98	Анемия Anemia	Н. д. N. d.	1127	РСД 10/10 MSD 10/10	КМ (нет) BM (no)	Трео 36 г/м ² , Флу 150 мг/м ² Treo 36 g/m ² , Flu 150 mg/m ²	ММФ, Такро MMF, Tacro	102, жив 102, alive
2	Мужской Male	12,64	Анемия Anemia	RPS19	712	Гапло Haplo	ПСКК (да) PBSC (yes)	Трео 42 г/м ² , Флу 150 мг/м ² , Тио 10 мг/кг Treo 42 g/m ² , Flu 150 mg/m ² , Thio 10 mg/kg	ММФ, Такро, Абат MMF, Tacro, Abat	9, жив 9, alive
3	Мужской Male	2,99	Анемия Anemia	RPS29	2794	НСД 9/10 MUD 9/10	ПСКК (да) PBSC (yes)	Трео 42 г/м ² , Флу 150 мг/м ² , Тио 10 мг/кг Treo 42 g/m ² , Flu 150 mg/m ² , Thio 10 mg/kg	Такро, Абат, Тоцил Tacro, Abat, Tocil	20, жив 20, alive
4	Мужской Male	6,44	МДС MDS	RPL31	567	НСД 9/10 MUD 9/10	КМ (нет) BM (no)	Трео 42 г/м ² , Флу 150 мг/м ² , Тио 10 мг/кг Treo 42 g/m ² , Flu 150 mg/m ² , Thio 10 mg/kg	Такро, Абат, ММФ, Тоцил Tacro, Abat, MMF, Tocil	32, жив 32, alive
5	Женский Female	2,34	Анемия Anemia	Н. д. N. d.	1629	НСД 10/10 MUD 10/10	ПСКК (да) PBSC (yes)	Трео 42 г/м ² , Флу 150 мг/м ² , Мелф 140 мг/м ² Treo 42 g/m ² , Flu 150 mg/m ² , Melph 140 mg/m ²	Такро Tacro	63, жив 63, alive
6	Женский Female	7,69	Анемия Anemia	Н. д. N. d.	1934	НСД 10/10 MUD 10/10	КМ (нет) BM (no)	Трео 42 г/м ² , Флу 150 мг/м ² , Тио 10 мг/кг Treo 42 g/m ² , Flu 150 mg/m ² , Thio 10 mg/kg	ЦФ (+3-й, +4-й дни), ММФ, Такро Cy (Days +3, +4), MMF, Tacro	55,7, жив 55,7, alive
7	Мужской Male	6,32	Анемия Anemia	RPS19	2342	НСД 10/10 MUD 10/10	ПСКК (да) PBSC (yes)	Трео 42 г/м ² , Флу 150 мг/м ² , Мелф 140 мг/м ² Treo 42 g/m ² , Flu 150 mg/m ² , Melph 140 mg/m ²	Такро Tacro	40, жив 40, alive
8	Мужской Male	8,21	Анемия Anemia	RPS29	1093	НСД 10/10 MUD 10/10	ПСКК (да) PBSC (yes)	Трео 42 г/м ² , Флу 150 мг/м ² , Тио 10 мг/кг Treo 42 g/m ² , Flu 150 mg/m ² , Thio 10 mg/kg	ММФ MMF	1,9, смерть 1,9, death
9	Мужской Male	5,04	Анемия Anemia	RPS10	1485	НСД 10/10 MUD 10/10	ПСКК (да) PBSC (yes)	Трео 42 г/м ² , Флу 150 мг/м ² , Тио 10 мг/кг Treo 42 g/m ² , Flu 150 mg/m ² , Thio 10 mg/kg	Такро Tacro	30, жив 30, alive

Примечание. Н. д. – нет данных; КМ – костный мозг; Трео – треосульфат; Флу – флударабин; Мелф – мелфалан; Тио – тиотепа; Такро – такролимус; Абат – абатацепт; Тоцил – тоцилизумаб; РСД – родственный сиблинговый донор; НСД – неродственный совместимый донор; гапло – гаплоидентичный донор.
Notes. N. d. – no data; MDS – myelodysplastic syndrome; BM – bone marrow; PBSC – peripheral blood stem cells; Treo – treosulfan; Flu – fludarabine; Melph – melphalan; Thio – thiotepa; MMF – mycophenolate mofetil; Tacro – tacrolimus; Abat – abatacept; Tocil – tocilizumab; FSD – family sibling donor; MUD – matched unrelated donor; haplo – haploidentical donor.

развитие аутоиммунной гемолитической анемии, в связи с чем проводилась комбинированная иммуносупрессивная терапия (ГКС, ритуксимаб, циклофосфан, азатиоприн). Однако ответ на терапию был достигнут только после спленэктомии. У 1 пациента отмечалась недостаточность трансплантата с трансфузионной зависимостью при полном донорском химеризме, в связи с чем проведена трансфузия CD34⁺-селектированных донорских клеток от того же донора через 6 мес после ТГСК. В дальнейшем у пациента возникли иммунные осложнения: поздняя острая РТПХ с поражением желудочно-кишечного тракта II стадии и Кумбс-негативный гемолиз, потребовавшие длительной иммуносупрессивной терапии в течение 2,5 года после ТГСК. Однако на момент последнего наблюдения все пациенты имеют нормальный уровень гемоглобина и отсутствие иммуносупрессивной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Миелоаблативные режимы кондиционирования на основе бусульфана длительное время являются стандартом для пациентов с АДБ. Бусульфан обладает высоким миелоаблативным эффектом, что важно для надежного приживления. Однако высокий риск и тяжесть токсических осложнений (мукозит, токсикодермия, веноокклюзионная болезнь печени, синдром идиопатической пневмонии) после его применения являются причиной ТГСК-ассоциированной летальности [23]. Треосульфат является пролекарством алкилирующего агента, структурно родственен бусульфану и имеет аналогичные миело- и иммуносупрессивные свойства. Однако альтернативный способ алкилирования значительно уменьшает его печеночную токсичность. Важным свойством

треосульфана также считается его более предсказуемая фармакокинетика в отличие от бусульфана, что также делает более управляемым его токсический профиль [24]. Режимы кондиционирования на основе треосульфана в настоящее время являются привлекательными с точки зрения снижения рисков токсических осложнений, однако мнения различных клиницистов о безопасности такого подхода с точки зрения недостаточности трансплантата по-прежнему различаются. В нашей когорте все пациенты получили кондиционирование на основе треосульфана. Кроме того, 1 пациент получил треосульфан 36 г/м^2 без добавления второго алкилирующего агента. Первичное приживление трансплантата у всех пациентов и только 1 случай недостаточности трансплантата позволяют сделать вывод о высоком миелоаблативном потенциале использованных нами подходов и о целесообразности их дальнейшего изучения. Также в недавно опубликованном исследовании немецко-французской группы пациентов с АДБ из 70 человек 13 получили кондиционирование на основе треосульфана и все имели устойчивое приживление трансплантата [21].

ТГСК является радикальным и эффективным методом лечения значительного количества заболеваний, к числу которых относятся также и синдромы врожденной костномозговой недостаточности, такие как АДБ. Эффективность контроля заболевания, к сожалению, не всегда свидетельствует о безопасном профиле используемой терапевтической технологии. Способы достижения приживления и сохранения функциональных свойств трансплантата нередко способствуют развитию тяжелых проблем, ассоциированных с проводимой терапией, таких как тяжелые токсические осложнения или РТПХ, которые могут иметь не только инвалидизирующие, но и жизнеугрожающие последствия. Именно поэтому проблема сохранения качества жизни после ТГСК и снижения риска жизнеугрожающих последствий терапии на сегодняшний день является одной из приоритетных.

Опыт применения режимов кондиционирования с редуцированной токсичностью на основе треосульфана для лечения пациентов с АДБ пока достаточно ограничен, в первую очередь из-за высокого риска тяжелых дисфункций трансплантата. Высокая пролиферативная активность миелопоэза потенциально увеличивает риски сохранения реципиентского клеточного пула после кондиционирования с недостаточными миелоаблативными свойствами, что, в свою очередь, приводит к конкурентной борьбе за химеризм. Аллоиммунизация вследствие регулярных трансфузий эритроцитарной массы от большого числа различных доноров также является отягощающим фактором сенсibilизации пациента в отношении трансплантата гемопоэтических стволовых

клеток. Обе эти проблемы являются отягощающими факторами в отношении перспектив приживления и функционирования трансплантата, что долгое время и оставалось основным аргументом для использования кондиционирования с высокими миелоаблативными свойствами, несмотря на потенциальный токсический профиль такой терапии.

Несмотря на небольшое число пациентов с АДБ, которым проводилась ТГСК, опыт применения кондиционирования с редуцированной токсичностью на основе треосульфана в настоящее время расценивается нами как эффективный, учитывая стойкое приживление трансплантата у всех 9 пациентов. Токсичность кондиционирования у 3 пациентов была транзиторной с хорошим ответом на терапию, а жизнеугрожающие токсические осложнения у 1 пациента протекали на отягощенном преморбидном фоне с тяжелыми функциональными проблемами.

Опыт применения иммуномагнитной подготовки трансплантата в виде $\text{TCR}\alpha\beta^+/\text{CD}19^+$ -деплеции при АДБ в настоящее время достаточно небольшой, что не позволяет сделать достоверное обоснование ее значения. Тем не менее эффективность метода в отношении контроля РТПХ ранее уже была продемонстрирована нами в статистически репрезентативных группах при других нозологиях [25, 26]. Среди пациентов, трансплантированных $\text{TCR}\alpha\beta^+/\text{CD}19^+$ -деплитированным трансплантатом, клинически значимой тяжелой РТПХ (> II стадии) не отмечалось ни в одном случае. РТПХ II стадии зарегистрирована у 5 пациентов, 2 из которых получили $\text{TCR}\alpha\beta^+/\text{CD}19^+$ -деплитированный трансплантат (1 – от гаплоидентичного донора, 1 – от 9/10 совместимого неродственного донора), и у 3 – при использовании неманипулированного трансплантата. Хронической РТПХ не было выявлено ни у одного больного, что является важным результатом, так как именно это осложнение значительно влияет на качество жизни и долгосрочную выживаемость у пациентов с незлокачественными заболеваниями.

Несмотря на небольшую группу пациентов, мы тем не менее можем сделать вывод о выполнимости и потенциальной эффективности данного метода при АДБ, что в первую очередь определяет возможности ТГСК от альтернативного донора при этом заболевании.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, современный взгляд на использование альтернативных подходов к подготовительной терапии, в частности применение треосульфана в кондиционировании, а также новые возможности технологий модификации клеточных характеристик трансплантата являются аргументом для улуч-

шения исходов терапии у пациентов с АДБ как за счет снижения риска клинически значимых и жизнеугрожающих осложнений, ассоциированных ТГСК, так и за счет обеспечения доступности трансплантации для большинства пациентов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Radygina S.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7696-1153>
Kozlovskaya S.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1754-1220>
Vasilieva A.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3949-248X>
Shipitsina I.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8687-5497>
Ovsyannikova G.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8880-9266>
Shelikhova L.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0520-5630>
Skvortsova Y.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0566-053X>
Balashov D.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2689-0569>
Maschan M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

- Vlachos A., Ball S., Dahl N., Alter B.P., Sheth S., Ramenghi U., et al.; Participants of Sixth Annual Daniela Maria Arturi International Consensus Conference. Diagnosing and treating Diamond Blackfan anaemia: results of an international clinical consensus conference. *Br J Haematol* 2008; 142 (6): 859–76. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07269.x. Epub 2008 Jul 30. PMID: 18671700; PMCID: PMC2654478.
- Josephs H.W. Anaemia of infancy and early childhood. *Medicine* 1936; 15: 307–451.
- Diamond L.K., Blackfan K.D. Hypoplastic anemia. *Am J Dis Child* 1938; 56: 464–7.
- Léger-Silvestre I., Caffrey J.M., Dawaliby R., Alvarez-Arias D.A., Gas N., Bertolone S.J., et al. Specific Role for Yeast Homologs of the Diamond Blackfan Anemia-associated Rps19 Protein in Ribosome Synthesis. *J Biol Chem* 2005; 280 (46): 38177–85. DOI: 10.1074/jbc.M506916200. Epub 2005 Sep 12. PMID: 16159874.
- Lipton J.M., Ellis S.R. Diamond Blackfan anemia 2008–2009: broadening the scope of ribosome biogenesis disorders. *Curr Opin Pediatr* 2010; 22 (1): 12–9. DOI: 10.1097/MOP.0b013e328334573b. PMID: 19915471; PMCID: PMC2886588.
- Da Costa L., O'Donohue M.F., van Dooijeweert B., Albrecht K., Unal S., Ramenghi U., et al. Molecular approaches to diagnose Diamond-Blackfan anemia: The EuroDBA experience. *Eur J Med Genet* 2018; 61 (11): 664–73. DOI: 10.1016/j.ejmg.2017.10.017. Epub 2017 Oct 26. PMID: 29081386.
- Bartels M., Bierings M. How I manage children with Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol* 2019; 184 (2): 123–33. DOI: 10.1111/bjh.15701. Epub 2018 Dec 4. PMID: 30515771; PMCID: PMC6587714.
- Ruggero D., Pandolfi P.P. Does the ribosome translate cancer? *Nat Rev Cancer* 2003; 3 (3): 179–92. DOI: 10.1038/nrc1015. PMID: 12612653.
- Vlachos A., Rosenberg P.S., Atsidaftos E., Alter B.P., Lipton J.M. Incidence of neoplasia in Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry. *Blood* 2012; 119 (16): 3815–9. DOI: 10.1182/blood-2011-08-375972. Epub 2012 Feb 23. PMID: 22362038; PMCID: PMC3335385.
- Lipton J.M., Atsidaftos E., Zyskind I., Vlachos A. Improving clinical care and elucidating the pathophysiology of Diamond Blackfan anemia: an update from the Diamond Blackfan Anemia Registry. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46 (5): 558–64. DOI: 10.1002/pbc.20642. PMID: 16317735.
- Berdoukas V., Nord A., Carson S., Puliye M., Hofstra T., Wood J., et al. Tissue iron evaluation in chronically transfused children shows significant levels of iron loading at a very young age. *Am J Hematol* 2013; 88 (11): E283–5. DOI: 10.1002/ajh.23543. Epub 2013 Sep 2. PMID: 23861216.
- Bartels M., Bierings M. How I manage children with Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol* 2019; 184 (2): 123–33. DOI: 10.1111/bjh.15701. Epub 2018 Dec 4. PMID: 30515771; PMCID: PMC6587714.
- Peiffault de Latour R., Peters C., Gibson B., Strahm B., Lankester A., de Heredia C.D.; Pediatric Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation; Severe Aplastic Anemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Recommendations on hematopoietic stem cell transplantation for inherited bone marrow failure syndromes. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (9): 1168–72. DOI: 10.1038/bmt.2015.117. Epub 2015 Jun 8. PMID: 26052913.
- Leblanc T.M., Da Costa L., Marie I., Demolis P., Tchernia G. Metoclopramide treatment in DBA patients: no complete response in a French prospective study. *Blood* 2007; 109 (5): 2266–7. DOI: 10.1182/blood-2006-08-039545. PMID: 17312003.
- Pospisilova D., Cmejlova J., Hak J., Adam T., Cmejla R. Successful treatment of a Diamond-Blackfan anemia patient with amino acid leucine. *Haematologica* 2007; 92 (5): e66–7. DOI: 10.3324/haematol.11498. PMID: 17562599.
- Dalle J.H., Peiffault de Latour R. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for inherited bone marrow failure syndromes. *Int J Hematol* 2016; 103 (4): 373–9. DOI: 10.1007/s12185-016-1951-0. Epub 2016 Feb 12. PMID: 26872907.
- Alter B.P. Inherited bone marrow failure syndromes: considerations pre- and post-transplant. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017; 2017 (1): 88–95.
- Narla A., Vlachos A., Nathan D.G. Diamond Blackfan anemia treatment: past, present, and future. *Semin Hematol* 2011; 48 (2): 117–23. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2011.01.004. PMID: 21435508; PMCID: PMC3073777.
- Fagioli F., Quarello P., Zecca M., Lanino E., Corti P., Favre C., et al. Hematopoietic stem cell transplantation for Diamond Blackfan anaemia: A report from the Italian Association of Paediatric Haematology and Oncology Registry. *Br J Haematol* 2014; 165 (5): 673–81.
- Vlachos A., Federman N., Reyes-Haley C., Abramson J., Lipton J.M. Hematopoietic stem cell transplantation for Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27 (4): 381–6.
- Strahm B., Loewecke F., Niemeyer C.M., Albert M., Ansari M., Bader P. Favorable outcomes of hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents with Diamond-Blackfan anemia. *Blood Adv* 2020; 4 (8): 1760–9. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001210. PMID: 32343795; PMCID: PMC7189291.
- Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hows J., Thomas E.D. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15 (6): 825–8. PMID: 7581076.
- Burroughs L.M., Shimamura A., Talamo J.A., Domm J.A., Baker K.K., Delaney C., et al. Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Using Treosulfan-Based Conditioning for Treatment of Marrow Failure Disorders. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23 (10): 1669–77. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.06.002. Epub 2017 Jun 7. PMID: 28602958; PMCID: PMC5605451.
- Bartelink I.H., Bredius R.G., Belitser S.V., Suttrop M.M., Bierings M., Knibbe C.A., et al. Association between busulfan exposure and outcome in children receiving intravenous busulfan before hematologic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15 (2): 231–41. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.11.022. PMID: 19167683.
- Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., Trakhtman P., Skvortsova Y., Shelikhova L., et al. Single-Center Experience of Unrelated and Haploidentical Stem Cell Transplantation with TCR $\alpha\beta$ and CD19 Depletion in Children with Primary Immunodeficiency Syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21: 1955–62.
- Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., Kurnikova E., Boyakova E., Balashov D., et al. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (5): 668–74. DOI: 10.1038/bmt.2015.343. Epub 2016 Jan 25.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 23.03.2021
Принята к печати 12.04.2021

10.24287/1726-1708-2021-20-2-46-52

Оценка состояния здоровья пациентов с аутосомно-рецессивной формой остеопетроза до и после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

А.Е. Буря, Е.Б. Мачнева, М.Б. Мельникова, Е.В. Скоробогатова

Российская детская клиническая больница ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Данное исследование демонстрирует результаты длительного наблюдения за здоровьем детей с инфантильным остеопетрозом (malignant infantile osteopetrosis, MIOP) до и после успешной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). В работе представлены данные о состоянии здоровья пациентов через 3–6 лет после проведенного лечения, оценены психическое и физическое здоровье детей, а также условия социальной адаптации. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. В настоящее время ТГСК – единственное известное средство радикального лечения пациентов с MIOP. У всех больных на момент проведения терапии наблюдались тяжелая степень нарушения зрения по типу нисходящей атрофии зрительного нерва, трансфузионно-зависимый дефицит кроветворной функции костного мозга, гепатоспленомегалия, были выражены скелетные аномалии и дефицит роста. В исследование включены 5 успешно трансплантированных пациентов с MIOP, проходивших лечение в 2014–2018 гг. ТГСК от неродственных 10/10 HLA-идентичных доноров проведена у 4 пациентов и от родственного 10/10 HLA-идентичного донора – у 1 больного. Распределение по полу мальчики:девочки составило 2:3, на момент трансплантации медиана возраста составила 7 (2–11) лет. У всех пациентов после ТГСК определялся полный донорский химеризм. В течение первых 150 дней после ТГСК у всех пациентов были нормализованы показатели гемопоэза. По данным рентгенологических исследований отмечена постепенная неполная редукция скелетных изменений, характерных для MIOP. У всех больных отмечены рост осевого скелета, ремоделирование лицевого скелета и уменьшение фенотипических проявлений заболевания. У всех пациентов зрение сохранилось на уровне до ТГСК. Данные опроса показали, что все пациенты отмечают более высокие показатели здоровья и качество жизни, чем до проведения ТГСК. Степень потери зрения в значительной степени определяет показатели качества жизни и степень социальной реабилитации. Вторым значимым фактором, определяющим качество жизни, было развитие хронического заболевания после ТГСК, в нашем случае течение эпилепсии и хронической формы легочной реакции «трансплантат против хозяина», которые требуют постоянного медицинского мониторинга и соответствуют сниженному реабилитационному потенциалу. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: остеопетроз, аутосомно-рецессивная форма, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Буря А.Е. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 46–52.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-46-52

Health assessment in patients with autosomal recessive osteopetrosis before and after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

A.E. Burya, E.B. Machneva, M.B. Melnikova, E.V. Skorobogatova

Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Here we report the results of long-term monitoring of children with malignant infantile osteopetrosis (MIOP) before and after a successful hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). We present patient health data collected 3–6 years after the completion of treatment, including information on the children's physical and mental health and social adaptation. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. HSCT is the only currently available radical treatment for MIOP. At the time of the treatment, all the patients exhibited severe visual impairment (descending optic atrophy), transfusion-dependent bone marrow dysfunction, hepatosplenomegaly, significant skeletal abnormalities and growth retardation. In this study, we included 5 MIOP patients with successful transplantation who had been treated from 2014 to 2018. Four patients underwent HSCT from unrelated 10/10 HLA-identical donors and 1 patient received HSCT from a related 10/10 HLA-identical donor. The ratio of boys to girls was 2:3, the median age at the time of the transplantation was 7 (2–11) years. All the patients demonstrated full donor chimerism after HSCT. Hematopoietic recovery was achieved within the first 150 days after HSCT. Radiological investigations showed gradual partial reduction of skeletal changes typical of MIOP. All the subjects demonstrated growth of the axial skeleton, facial bone remodeling and abatement of phenotypic features of the disease. The patients' vision remained the same as before HSCT. All the patients reported that their health and quality of life had improved after HSCT. The degree of visual impairment had a substantial impact on the quality of life and social rehabilitation of the patients. The second major factor affecting the quality of life was the development of chronic conditions after HSCT, namely, epilepsy and chronic "graft-versus-host" disease of the lung that require constant medical monitoring and limit rehabilitation potential. The patients' parents gave their consent to the use of their children's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: osteopetrosis, autosomal recessive, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Burya A.E., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 46–52.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-46-52

Correspondence:

Alexandra E. Burya,
an anesthesiologist-intensivist
at the Department of Bone Marrow
Transplantation of the Russian Children's
Clinical Hospital, N.I. Pirogov Russian
National Research Medical University of
Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 117 Leninskiy Prosp.
Moscow 117997, Russia
E-mail: burya.a.e@gmail.com

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 23.03.2021

Accepted 12.04.2021

В исследовании представлены результаты длительного наблюдения за здоровьем детей с инфантильным остеопетрозом (malignant infantile osteopetrosis, MIOP) перед и после успешно выполненной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [1].

Формирование симптомокомплекса MIOP начинается с ранних стадий развития ребенка, и симптомы заболевания можно выявить уже во время беременности при ультразвуковом исследовании [2]. В нашей работе мы приводим обзор имеющихся данных об изменениях, происходящих в процессе формирования заболевания, и изменениях, возникающих после ТГСК. Имеется достаточное количество исследований, описывающих симптомокомплекс MIOP. Посттрансплантационный мониторинг преимущественно охватывает оценку осложнений раннего периода после проведенной терапии и не затрагивает оценку качества жизни у таких пациентов, а также поздние эффекты. Длительное наблюдение за данной категорией пациентов важно в связи с особенностями заболевания, но в настоящее время основывается исключительно на стандартных оценочных критериях. Посттрансплантационное наблюдение базируется на оценке риска развития осложнений и определении связанных с ними предикторных факторов [3].

Длительное наблюдение пациентов с MIOP необходимо для понимания пользы терапевтического воздействия аллогенной ТГСК. Выявление ранних и поздних положительных и отрицательных эффектов ТГСК может улучшить понимание данной патологии и оценку реабилитационного потенциала пациентов. Интерес представляет определение зоны физиологически пластичных, обратимых пред- и посттрансплантационных осложнений, сроки и длительность их развития. Исследование проводится для получения практической информации об отдаленных хронических эффектах и их влиянии на качество жизни [4].

Посттрансплантационный мониторинг проводится у всех пациентов в целях предупреждения, ранней диагностики и снижения тяжелых эффектов, включая ранний летальный исход [5]. Проведение такого мониторинга в группах с редкими наследственными патологиями представляет собой сложную задачу из-за небольшого количества наблюдений.

Помимо необходимости регулярной оценки органного статуса, профилактики и предупреждения развития вторичных онкологических процессов ежедневной рутинной проблемой пациентов после аллогенной ТГСК является преодоление, и/или компенсация развившихся нейрокогнитивных дисфункций, ассоциированных с посттрансплантационным периодом [6], или, как в случае MIOP, предтрансплантационным статусом основного заболевания.

В то же время пока нет специализированных оценочных критериев, проводится обследование по результатам стандартного клинического, инструментального и лабораторного исследований пациентов в динамике. В работе представлены данные о состоянии здоровья пациентов с MIOP через 3–6 лет после проведенной ТГСК, оценены психическое и физическое состояние здоровья детей, а также возможности и условия социальной адаптации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. В исследование включены 5 успешно трансплантированных пациентов с MIOP [7], проходивших лечение в отделении трансплантации костного мозга РДКБ в 2014–2018 гг. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

Среди пациентов были 2 мальчика и 3 девочки, медиана возраста на момент трансплантации составила 7 (2–11) лет.

По данным анамнеза у всех пациентов первые симптомы заболевания появились в ранние сроки после рождения. С момента рождения до 4 месяцев появлялись признаки гидроцефально-гипертензионного синдрома, отмечались увеличение и диспропорциональный рост черепа. Следующим выявляемым клиническим фактором было развитие атрофии зрительного нерва, которая была диагностирована у всех 5 пациентов в период от 2 до 4 месяцев. Степень выраженности поражения зрительного нерва варьировала от сохраненного светоощущения к предметному зрению, у 1 больного поражение было односторонним, и он сохранил зрение на 1 глаз. Также у 1 пациента отмечалось развитие мукоцеле решетчатого лабиринта слева, развившееся вторично из-за аномалий соустьев придаточных пазух носа, что стало дополнительной причиной компрессии орбиты с развитием экзофтальма [8]. У другого пациента диагностирована врожденная глаукома, которая была прооперирована в ранние сроки после рождения. На ранних сроках после рождения, в период от 1 до 9 месяцев, у всех пациентов отмечено развитие анемии с показателями гемоглобина от 61 до 90 г/л и тромбоцитопении около 100 тыс/мкл. Гипофункция костномозгового кроветворения расценивалась как железодефицитная или фолатдефицитная, было проведено лечение, которое не имело эффекта. Снижение показателей гемоглобина корректировалось заместительной трансфузионной терапией. У всех

пациентов отмечалось омоложение лейкоцитарной формулы и лейкоцитоза с максимальным значением 15 тыс/мкл, у 1 больного подозревалось развитие миелодиспластического синдрома, что ускорило диагностику остеопетроза. Параллельно со снижением показателей крови у всех пациентов нарастали признаки гепатоспленомегалии в период до 9 месяцев после рождения. По данным инфекционного мониторинга эта группа пациентов не имела проявлений иммунодефицита: основным инфекционным процессом, отмеченным у 3 из 5 пациентов, было развитие остеомиелита верхней челюсти, характерного для данного заболевания [9]. У 2 детей, трансплантированных в возрасте младше 2 лет, развитие остеомиелита не отмечалось, что, возможно, связано с питанием измельченной пищей. Пациентам с остеомиелитом проведено хирургическое лечение до ТГСК. Отставание в росте было зафиксировано у всех детей, и выраженность задержки роста увеличивалась с возрастом ребенка. У всех больных отмечалась задержка психомоторного развития, обусловленная замедленным дисгармоничным ростом, увеличением размеров головы на фоне гидроцефально-гипертензионного синдрома, снижением зрения/слепотой, анемией. На *рисунке 1* показан 1 пациент до ТГСК.

Все пациенты имели сложности с диагностикой заболевания. Диагноз был установлен в возрасте

Рисунок 1
Пациент №1 до ТГСК

Figure 1
Patient №1 before HSCT



от 9 месяцев до 5 лет (медиана – 3 года). На момент постановки диагноза 5 из 6 пациентов находились в плато-фазе течения остеопетроза с субкомпенсацией гидроцефально-гипертензионного синдрома. Слепота и двусторонняя атрофия зрительного нерва отмечались у 4 из 5 пациентов. У всех больных наблюдались среднетяжелая анемия, тромбоцитопения, омоложение лейкоцитарной формулы, фиксировались очаги экстрамедуллярного кроветворения и гиперспленизм. Этот статус сохранялся перед ТГСК.

Аллогенная ТГСК от полностью совместимого неродственного донора была выполнена 4 пациентам, 1 больному проведена трансплантация периферических стволовых клеток от полностью совместимого родственного донора.

Для всех пациентов перед трансплантацией использовался миелоаблативный режим кондиционирования: треосульфан 42 г/м², флударабин 150 мг/м², мельфалан 140 мг/м² ($n = 4$) или тиофосфамид 10 мг/кг ($n = 1$). При неродственных аллогенных ТГСК при кондиционировании с иммуносупрессивной целью вводился антиtimoцитарный глобулин. Большинство исследователей отмечают высокий риск миелоаблативного кондиционирования при данной нозологии [1] из-за высокого риска развития синдрома эндотелиального повреждения с поздним, отсроченным дебютом [10, 11]. В то же время при использовании режимов сниженной интенсивности отмечается высокий процент отторжения или первичного неприживления трансплантата [1]. По нашим данным, использование алкилирующей терапии не привело к увеличению краткосрочной токсичности или повышенной смертности, связанной с ТГСК. Орофарингеальный мукозит до II степени тяжести отмечен у 5 пациентов, энтероколит до II степени – у 4 и до III–IV степени тяжести – у 1 больного. Грамотрицательный сепсис отмечался у 1 пациента (*рисунк 2*) и у 1 – транзиторная виремия цитомегаловируса. При оценке долгосрочных данных при использовании режиме кондиционирования в период от 3 до 6 лет пациенты не имели отсроченных токсических посттрансплантационных эффектов, связанных с режимом кондиционирования.

Вторичным критерием оценки исхода, связанного с трансплантацией, было развитие реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Профилактика РТПХ проводилась с использованием ритуксимаба, метотрексата, такролимуса/циклоsporина А. При данном режиме профилактики в 3 случаях было отмечено развитие острых форм РТПХ. У 2 пациентов эпизоды острой РТПХ носили кратковременный характер до II степени кожной и интестинальной форм и были успешно купированы до +30-го дня после ТГСК. Однако у 1 пациента после аллогенной ТГСК, выполненной от неродственного HLA-совместимого

Рисунок 2
Пациент №4 с грамотрицательным сепсисом (*Klebsiella pneumoniae*)

Figure 2
Patient №4 with gram-negative sepsis (*Klebsiella pneumoniae*)



донора в возрасте 1 года 7 месяцев, в раннем посттрансплантационном периоде отмечалось развитие тяжелой РТПХ III–IV степени с поражением кожи II степени и кишечника III–IV степени, сопровождаемой гемоколитом. Состояние расценивалось как развитие вторичной тромботической микроангиопатии с поражением кишечника, печени, головного мозга с развитием токсико-дисметаболической энцефалопатии, снижением белково-синтетической функции печени. Терапия осложнений потребовала длительной многофакторной терапии в течение 6 мес. В течение последующих 3 лет наблюдения у пациента сформировалось хроническое состояние по типу симптоматической эпилепсии с эпизодами «обмывания» 2–3 раза в месяц, что требует медицинского контроля и госпитализации 1 раз в 2–3 мес. У этого пациента отмечается сохраняющаяся задержка психоречевого развития, сниженный потенциал к социальной адаптации, способности к самостоятельности и эмоциональная лабильность.

Несмотря на миелоаблативный режим кондиционирования у 1 пациента наблюдался смешанный химеризм с +60-го дня с нарастанием количества собственных клеток к +90-му дню. Проводилась терапия флударабином 90 мг/м², дополненная

3 трансфузиями донорских лимфоцитов (максимальная доза – $6,5 \times 10^6/\text{кг}$), после чего зафиксировано полное восстановление донорского химеризма в течение последующих 2 мес. В дальнейшем все пациенты имели полный донорский химеризм в течение всего последующего времени наблюдения.

Наблюдение в раннем посттрансплантационном периоде показало, что до 5–6 мес после трансплантации у всех 5 пациентов сохранялась трансфузионная зависимость на фоне гипофункции трансплантата из-за сниженного плацдарма гемопоза. Также на сроке наблюдения 2–5 мес после ТГСК был зафиксирован недлительный период умеренной гиперкальциемии, отмечавшийся у всех пациентов. Осложнения купированы на фоне стандартной терапии и не имели рецидивов при последующем наблюдении. В течение первых 150 дней после ТГСК у всех пациентов были нормализованы показатели гемограммы и на протяжении всего дальнейшего периода наблюдения остаются полностью трансфузионно-независимыми. Также в течение первого года у всех пациентов отмечены сокращение размеров печени и селезенки и разрешение симптомов гиперспленизма.

По данным рентгенологических исследований отмечена медленная постепенная редукция скелетных изменений, характерных для МИОР, на фоне роста ребенка. Редукция более выражена у пациентов, трансплантированных в раннем возрасте. У всех больных отмечен рост осевого скелета, который, согласно возрастной таблице роста, находится в границах низких возрастных норм у 4 пациентов и средних значений у 1 больного. Редукция костных изменений происходит поэтапно: первыми уменьшались проявления в длинных трубчатых костях, значительно медленней они происходили в ребрах, костях таза и черепа. Значения обхвата груди и головы соответствовали средним значениям возрастных норм. На фоне роста ребенка отмечались ремоделирование лицевого скелета и уменьшение фенотипических проявлений остеопетроза.

У всех детей зрение сохранилось на уровне до ТГСК: 3 пациента – светоощущение, 1 – предметное, 1 больной сохранил зрение на 1 глаз полностью.

В период от 1 до 2 лет после ТГСК у 2 пациентов отмечено развитие хронической посттрансплантационной патологии. Первый пациент с развитием токсико-дисметаболической энцефалопатии и формированием симптоматической эпилепсии. Во втором случае больной перенес риносинтициальную вирусную инфекцию через 1,5 года после ТГСК, что спровоцировало развитие легочной формы РТПХ по типу облитерирующего бронхиолита с формированием симптомокомплекса дыхательной недостаточности I–II степени в периоды обострения. Этот

пациент нуждается в продолжении иммуносупрессивной терапии до настоящего времени с госпитализациями 2–3 раза в год, отмечена повышенная эмоциональная лабильность в период пубертата.

Последующий период наблюдения от 3 до 6 лет не обнаружил формирования новых хронических патологических процессов у данной группы пациентов. Больные проходили плановый динамический мониторинг с частотой 1–2 раза в год.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данные опроса показали, что все пациенты отмечают лучшие показатели здоровья, чем до ТГСК, и более высокое качество жизни. Имеется значительное количество данных, что после успешно проведенной аллогенной ТГСК у всех пациентов нормализовалась функция костного мозга, произошла редукция вторичного гемопоэза и проявлений гиперспленизма. У всех детей отмечены рост осевого скелета и сглаживание фенотипических проявлений остеопетроза. Однако у 4 из 5 пациентов показатели роста остаются на уровне низких значений. Общая оценка физического развития и навыков, по данным опроса, показала хороший уровень физиологической реабилитации после ТГСК.

Степень потери зрения в значительной степени определяет показатели качества жизни. Наилучшую социальную реабилитацию имеет ребенок, сохранивший зрение на 1 глаз: он успевает в средней школе, имеет друзей и пользуется авторитетом среди сверстников. Пациенты, имеющие выраженное нарушение зрения, находятся на домашнем обучении или обучаются в специализированных школах.

Основной причиной нарушения нейрокогнитивных функций связано с перцепционной обработкой из-за потери зрения, другие параметры, такие как концентрация внимания, абстрактное мышление, моторная функция и эмоции не страдали или были вовлечены вторично.

Вторым значимым фактором, определяющим качество жизни, было наличие хронического заболевания после ТГСК, в нашем случае течение эпилепсии и наличие хронической формы легочной РТПХ. У этих пациентов имели место более частые госпитализации, сохранялась необходимость постоянного приема препаратов. У ребенка 14 лет были нарушения преимущественно эмоциональной сферы и у пациента 4 лет отмечались нарушения как неврологического, так и эмоционального характера. Интересно отметить, что у больных, трансплантированных в более старшем возрасте, социальная адаптация и общение со сверстниками были лучшими по сравнению с ребенком, имевшим задержку нейропсихического развития на фоне эпилепсии после ТГСК,

выполненной в возрасте до 2 лет. На рисунках 3–5 показаны фотографии пациентов, сделанные в разные сроки после ТГСК.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Аутосомно-рецессивный остеопетроз симптоматически проявляется в ранние сроки после рождения. Симптомы остеопетроза прогредиентно нарастают на фоне роста ребенка. У большинства пациентов развивается нисходящая атрофия зрительного нерва в ранние сроки после рождения. Сужение канала зрительного нерва приводит к полной или частичной потере зрения. Существенный вклад в развитие слепоты вносит повышение внутричерепного давления из-за сдавления вен при краниостенозе с нарушением венозного оттока из полости черепа. Также в отдельных случаях скелетные аномалии, такие как сужение соустьев придаточных пазух носа развитием мукоцеле решетчатого лабиринта, могут стать дополнительной причиной компрессии орбиты, повышения внутриглазного давления и развития экзофтальма. В нашей выборке у всех пациентов отмечены разные степени проявления атрофии зрительного нерва. Гипотетически можно предположить, что при сужении канала зрительного нерва разрыв волокон происходит частично с сохранением

Рисунок 3
Пациент №1 через 6 лет после ТГСК

Figure 3
Patient №1, 6 years after HSCT



передачи импульса по волокнам зрительного нерва. При данной патологии недооценен вклад повышенного внутричерепного давления в условиях сужения канала зрительного нерва, приводящего к венозному полнокровию и отеку диска зрительного нерва с вторичной потерей ганглиозных клеток сетчатки. В настоящее время разрабатываются технологии проведения регенерации потерянной функции [12].

ТГСК – единственное известное средство радикального лечения при МНОП. У всех пациентов на момент проведения терапии наблюдались тяжелая степень нарушения зрения по типу нисходящей атрофии зрительного нерва, имелись трансфузионно-зависимый дефицит кроветворной функции костного мозга, гепатоспленомегалия, были выражены скелетные аномалии и дефицит роста. Когнитивные нарушения после ТГСК состоят из 2 частей: когнитивные нарушения до ТГСК, обусловленные основным заболеванием, слепотой, и посттрансплантационные нарушения, обусловленные осложнениями посттрансплантационного периода, которые, по-видимому, сокращают компенсаторные механизмы.

Все пациенты после проведенной ТГСК отмечают лучшее состояние здоровья, чем до ТГСК. Частота госпитализаций составляет от 1 раза в 2–3 мес у 2 пациентов с посттрансплантационными осложне-

ниями: хроническая легочная РТПХ и эпилепсия до 1 раза в год для проведения контрольного обследования у 3 пациентов.

Нарушения, имеющие функциональный характер, могут быть полностью или частично компенсированы: кроветворение, иммунный статус, рост и развитие костей, особенно при условии раннего проведения аллогенной ТГСК. Наблюдение и оценка возможных поздних посттрансплантационных эффектов должны быть направлены на предупреждение формирования стойких хронических осложнений и не приводить к сокращению реабилитационного потенциала.

По результатам опроса у всех пациентов сохранена способность к социальной адаптации, самостоятельности и самообслуживанию. Все больные имеют возможности к реабилитации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Злокачественный остеопетроз (МНОП) – это тяжелое заболевание у детей, при котором в течение первых лет жизни наблюдаются нарушение зрения, задержка психомоторного развития, недостаточность костного мозга, рецидивирующие инфекции полости рта, а на поздних стадиях – неврологический дефицит и в конечном счете смерть. В нашем исследовании показано, что после успешной ТГСК у пациентов с

Рисунок 4
Пациентка №3 через 4 года 6 мес после ТГСК

Figure 4
Patient №3, 4 years 6 months after HSCT



Рисунок 5
Пациент №4 через 2 года после ТГСК

Figure 5
Patient №4, 2 years after HSCT



сохранным зрением купируются признаки задержки психомоторного развития, а в других случаях задержка развития сохраняется согласно степени потери зрения и имеет сниженный реабилитационный потенциал. Значительное влияние на качество жизни в нашем случае имело развитие поздних осложнений, таких как симптоматическая эпилепсия и хроническая форма легочной РТПХ, которые требуют постоянного медицинского мониторинга и соответствуют снижению реабилитационному потенциалу.

Необходимы дальнейшие исследования с использованием надежной методологии и большей

выборки пациентов, трансплантированных в раннем возрасте.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Burya A.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4170-7152>

Machneva E.B. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2395-4045>

Melnikova M.B. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3616-1976>

Skorobogatova E.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4431-1444>

Литература

- Schulz A., Moshous D., Steward C.G., Villa A. Osteopetrosis – Consensus Guidelines of the ESID and the EBMT Working Party Inborn Errors. 2011.
- Bliznetz E.A., Tverskaya S.M., Zinchenko R.A., Abrukova A.V., Savaskina E.N., Nikulin M.V., et al. Genetic analysis of autosomal recessive osteopetrosis in Chuvashiya: the unique splice site mutation in TCIRG1 gene spread by the founder effect. *Eur J Hum Genet* 2009; 17 (5): 664–72.
- Bhatia S., Armenian S.H., Landier W. How I monitor long-term and late effects after blood or marrow transplantation. *Blood* 2017; 130 (11): 1302–14.
- Inamoto Y., Lee S.J. Late effects of blood and marrow transplantation. *Haematologica* 2017; 102 (4): 614–25.
- Holmqvist A.S., Chen Y., Wu J., Battles K., Bhatia R., Francisco L., et al. Assessment of late mortality risk after allogeneic blood or marrow transplantation performed in childhood. *JAMA Oncol* 2018; 4 (12): e182453.
- Buchbinder D., Lynch Kelly D., Duarte R.F., Auletta J.J., Bhatt N., Byrne M., et al. Neurocognitive dysfunction in hematopoietic cell transplant recipients: expert review from the late effects and Quality of Life Working Committee of the CIBMTR and complications and Quality of Life Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53 (5): 535–55.
- Буря А.Е., Киргизов К.И., Пристанкова Е.А., Мельникова М.Б., Пальм В.В., Михайлова С.В., Скоробогатова Е.В. Опыт проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при аутосомно-рецессивном остеопетрозе у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2019; 18 (2): 43–52.
- Кочетков П.А., Ордян А.Б., Луничева А.А. Мукоцеле решетчатого лабиринта как осложнение трансэктоидальной эндоскопической декомпрессии орбиты. *Клинический случай. Consilium Medicum* 2018; 20 (11).
- Lobo B.L.V., Francelino Dias N.F., de Carvalho Lemos M.L., de Albuquerque L.C. Acute maxillary osteomyelitis in a patient affected by malignant infantile osteopetrosis: report of a rare case of survival. *Rev Med (São Paulo)* 2020; 99 (4): 405–10.
- Kuroyanagi Y., Kawasaki H., Noda Y., Ohmachi T., Sekiya S., Yoshimura K., et al. A fatal case of infantile malignant osteopetrosis complicated by pulmonary arterial hypertension after hematopoietic stem cell transplantation. *Tohoku J Exp Med* 2014; 234 (4): 309–12.
- Bahr T.L., Lund T., Sando N.M., Orchard P.J., Miller W.P. Haploidentical transplantation with post-transplant cyclophosphamide following reduced-intensity conditioning for osteopetrosis: outcomes in three children. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (11): 1546–8.
- Rabesandratana O., Goureau O., Orioux G. Pluripotent stem cell-based approaches to explore and treat optic neuropathies. *Front Neurosci Frontiers* 2018; 12: 651.

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-53-64

Высокодозная полихимиотерапия с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у детей с неходжкинскими лимфомами

А.В. Козлов, И.В. Казанцев, Т.В. Юхта, П.С. Толкунова, А.Г. Геворгян, И.Ю. Николаев, А.Н. Галибин, О.И. Богданова, Д.А. Звягинцева, М.С. Голенкова, О.С. Юдинцева, У.В. Свиридова, А.Н. Швецов, В.В. Байков, Е.В. Бабенко, М.А. Эстрина, Ю.А. Пунанов, Е.В. Морозова, А.Д. Кулагин, Н.Б. Михайлова, Л.С. Зубаровская

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

Не вызывает сомнений, что аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) с высокодозной полихимиотерапией (ПХТ) является стандартным методом консолидации второй ремиссии в случае развития рецидива или первой ремиссии при рефрактерном течении у взрослых пациентов с неходжкинскими лимфомами (НХЛ) (за исключением лимфобластной лимфомы, при которой предпочтительнее использовать аллогенную трансплантацию). В педиатрии по аналогии с пациентами старше 18 лет используется идентичный алгоритм, однако его доказательная база в отличие от взрослых слабее, так как отсутствуют рандомизированные клинические исследования и в целом число пациентов невелико, что затрудняет проведение анализа. В связи с наличием значительного числа нерандомизированных исследований, подтверждающих преимущества трансплантации, планирование и реализация прямого сравнения ауто-ТГСК и ПХТ в педиатрии в рамках рандомизированного исследования не представляются возможными в первую очередь по этическим соображениям. Несмотря на то, что трансплантация не способна принципиально изменить прогноз у всех детей с рецидивирующим или рефрактерным течением (Р-Р) НХЛ, без этого метода излечение не может быть достигнуто. С учетом того, что большая часть работ, посвященных ауто-ТГСК у детей с Р-Р НХЛ, опубликована более 10 лет назад, современные данные по этому вопросу представляют большой интерес из-за широкого внедрения эффективных методов таргетной и иммунотерапии за последнее десятилетие. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. В НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой с 2008 по 2020 г. ауто-ТГСК проведена 31 ребенку с Р-Р НХЛ. Медиана возраста на момент трансплантации составила 14 (2–18) лет. У большинства пациентов в дебюте отмечали III или IV стадию заболевания ($n = 30$, 97%), при этом поражение центральной нервной системы зарегистрировано у 4 (13%), поражение костного мозга – у 2 (6%) больных. Наблюдали следующие гистологические варианты: первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома ($n = 11$, 35%), анапластическая крупноклеточная лимфома ($n = 6$, 19%), лимфома Беркитта ($n = 5$, 16%), диффузная В-крупноклеточная лимфома ($n = 5$, 16%), периферическая Т-клеточная лимфома ($n = 2$, 7%), В-клеточная НХЛ неуточненная ($n = 1$, 3%) и лимфобластная лимфома ($n = 1$, 3%). Соматический статус по шкале Карновского перед трансплантацией у всех пациентов был $\geq 90\%$. Медиана времени от постановки диагноза до ауто-ТГСК составила 304 (122–3888) дня. Медиана предшествующих линий терапии – 2 (1–4). Первую линию терапии у большей части пациентов ($n = 27$, 87%) проводили в соответствии с принципами, разработанными группой BFM, у 4 (13%) больных старшего возраста использовали схемы на основе CHOP. В качестве второй линии терапии у 18 (58%) человек проведена схема R-ICE (ритуксимаб, ифосфамид, карбоплатин, этопозид), у остальных пациентов использовали другие схемы. Течение НХЛ было рецидивирующим ($n = 14$, 45%) или рефрактерным ($n = 17$, 55%). Гистологическое подтверждение Р-Р НХЛ проведено у 11 (35%) человек, в остальных случаях диагноз был установлен на основании визуализационных методов диагностики и их корреляции с клинической картиной. Ремиссии перед ауто-ТГСК удалось достичь в 90% ($n = 28$) случаев, при этом полную ремиссию наблюдали в 39% ($n = 8$), а частичную – в 51% ($n = 16$) случаев. Троем (10%) пациентам трансплантацию проводили вне ремиссии. Источником трансплантата были периферические гемопоэтические стволовые клетки ($n = 19$, 61%) и костный мозг ($n = 12$, 39%). Медиана CD34⁺/кг составила 3,85 (2–7,6). В качестве режима кондиционирования применяли режимы BEAM ($n = 13$, 42%) и BeEAM ($n = 18$, 58%). Оба режима состояли из этопозида 200 мг/м²/сут с Д5 по Д2, цитарабина

© 2021 ФГБУ «НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 23.03.2021

Принята к печати 12.04.2021

Контактная информация:

Козлов Андрей Вадимович, канд. мед. наук, старший научный сотрудник НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой, доцент кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8
E-mail: kozlovandrew1983@yandex.ru

400 мг/м²/сут с Д5 по Д2, мелфалана 140 мг/м²/сут в Д1. Схемы отличались использованием кармустина 300 мг/м²/сут на Д6 в случае ВЕАМ или бендамустина 160 мг/м²/сут на Д7 и Д6 при ВеЕАМ. Иммунохимию или таргетную терапию до ауто-ТГСК проводили у большинства пациентов ($n = 25$, 80%). Использовали следующие препараты: ритуксимаб ($n = 20$, 65%), брентуксимаб ведотин ($n = 6$, 19%), ниволумаб ($n = 3$, 10%), кризотиниб ($n = 2$, 6%). У всех пациентов после ауто-ТГСК отмечали временную трехростковую цитопению IV степени. Мукозит III–IV степени зарегистрирован у 10 (30%) пациентов и инфекционные осложнения III–IV степени – у 3 (10%) детей. Трансплантационная летальность не зафиксирована. За время наблюдения 6 (19%) больных умерли из-за прогрессии основного заболевания. При медиане наблюдения 888 (66–3375) дней 5-летняя общая (ОВ) и бессобытийная (БСВ) выживаемость составила 70% (95% доверительный интервал 43–86) и 62% (95% доверительный интервал 41–80) соответственно. Кумулятивная частота рецидива составила 38% (95% доверительный интервал 20–58). По полученным в нашей работе данным можно сделать вывод, что использование таргетной или иммунохимиотерапии статистически значимо увеличивает ОВ ($p = 0,013$). Это связано как с более качественной ремиссией перед ауто-ТГСК, так и с наличием эффективного лечения для части пациентов (главным образом при анапластической крупноклеточной лимфоме) в случае рецидива после ауто-ТГСК. Достигнутая долгосрочная выживаемость сопоставима или даже несколько превосходит полученные ранее другими исследователями данные. Почти треть больных страдали первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомой, и это одна из возможных причин более высоких долгосрочных ОВ и БСВ по сравнению с ранее опубликованными результатами. Также на показатели выживаемости могло повлиять наличие 6 больных с Р-Р анапластической крупноклеточной лимфомой, имеющих более благоприятный прогноз, и, вероятно, отсутствие морфологического подтверждения Р-Р НХЛ (“second look”) у части пациентов ($n = 20$, 65%), что не исключает возможное включение в работу ряда излеченных пациентов. Важность проведенной нами работы заключается в том, что значительная часть больных ($n = 25$, 80%) прошли через этап таргетной или иммунохимиотерапии. Это позволило показать эффективность трансплантации при разных видах НХЛ у детей в так называемую эру иммунохимиотерапии. Ауто-ТГСК является эффективным и относительно безопасным методом лечения детей с Р-Р НХЛ, позволяющим добиться излечения у значительной части пациентов. Использование таргетной или иммунохимиотерапии улучшает прогноз трансплантированных пациентов. Для подтверждения Р-Р НХЛ желательно проведение повторной биопсии.

Ключевые слова: аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, дети, неходжкинская лимфома

Козлов А.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 53–64.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-53-64

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 23.03.2021

Accepted 12.04.2021

High-dose polychemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation in children with non-Hodgkin lymphomas

A.V. Kozlov, I.V. Kazantsev, T.V. Yukhta, P.S. Tolkunova, A.G. Gevorgyan, I.Yu. Nikolayev, A.N. Galibin, O.I. Bogdanova, D.A. Zvyagintseva, M.S. Golenkova, O.S. Yudinseva, U.V. Sviridova, A.N. Shvetsov, V.V. Baykov, E.V. Babenko, M.A. Estrina, Yu.A. Punanov, E.V. Morozova, A.D. Kulagin, N.B. Mikhaylova, L.S. Zubarovskaya

R.M. Gorbacheva Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

Correspondence:

Andrey V. Kozlov, Cand. Med. Sci., Senior Research Associate at R.M. Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Associate Professor for Hematology, Transfusiology and Transplantation Chair at I.P. Pavlov Saint-Petersburg First State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 6–8 Lva Tolstogo St., Saint Petersburg, 197022, Russia
E-mail: kozlovandrew1983@yandex.ru

There is no doubt that autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT) with high-dose polychemotherapy (PCT) is a standard method for the second remission consolidation in case of relapse or for the first remission consolidation in refractory disease in adult patients with non-Hodgkin lymphomas (NHL) (with the exception of lymphoblastic lymphoma in which allogeneic transplantation is preferable). Similar to patients older than 18 years of age, an identical algorithm is applied in pediatric patients, however in the absence of randomized clinical trials and due to a small number of patients, the evidence base in children is weaker compared to adults, which complicates the analysis. Due to a significant number of nonrandomized studies confirming the benefits of transplantation, it is impossible to plan and make a direct comparison of auto-HSCT and standard chemotherapy in pediatric patients within a randomized study primarily because of ethical reasons. Although transplantation is not able to fundamentally change the prognosis in all children with relapsed or refractory (R/R) NHL, a cure cannot be achieved without this method. Taking into account that most of the works devoted to auto-HSCT in children with R/R NHL were published more than 10 years ago, current data on this issue are of great interest due to the large-scale implementation of the effective methods of targeted and immunotherapy over the past decade. This study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation. At the R.M. Gorbacheva Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, 31 children with R/R NHL underwent auto-HSCT from 2008 to 2020. The median age at the time of transplantation was 14 (2–18) years. At the onset of the disease, most patients were diagnosed with stage III or IV cancer ($n = 30$, 97%), the CNS involvement was registered in 4 patients (13%), the bone marrow involvement was registered in 2 patients (6%). The histological variants were as follows: primary mediastinal large B-cell lymphoma ($n = 11$, 35%), anaplastic large cell lymphoma ($n = 6$, 9%), Burkitt's lymphoma ($n = 5$, 16%), diffuse large B-cell lymphoma ($n = 5$, 16%), peripheral T-cell lymphoma ($n = 2$, 7%), unspecified B-NHL ($n = 1$, 3%) and lymphoblastic lymphoma ($n = 1$, 3%). The Karnofsky performance status prior to transplantation was $\geq 90\%$ in all patients. The median time from diagnosis to auto-HSCT was 304 (122–3888) days. The median number of prior lines of therapy was 2 (1–4). In the majority of the patients ($n = 27$, 87%), a first-line treatment was carried out according to the principles developed by the BFM group and in 4 older children (13%), we used regimens based on CHOP. As a second-line treatment, 18 (58%) patients received R-ICE (rituximab, ifosfamide, carboplatin, etoposide); the rest of the patients were treated with other regimens. NHL was relapsed ($n = 14$, 45%) or refractory ($n = 17$, 55%). A histological confirmation of R/R NHL was carried out in 11 (35%) patients; in the rest of the cases, the diagnosis was made based on the imaging results and their correlation with the clinical presentation. Remission prior to auto-HSCT was achieved in 90% ($n = 28$) of cases: complete remission was observed in 39% ($n = 8$) of cases, and partial remission was observed in 51% ($n = 16$) of cases. In addition, transplantation was carried out in

three patients (10%) who did not achieve remission. The graft sources were peripheral hematopoietic stem cells ($n = 19$, 61%) and bone marrow ($n = 12$, 39%). The median CD34⁺ cells/kg was 3.85 (2–7.6). As conditioning regimens we used BEAM ($n = 13$, 42%) and BeEAM ($n = 18$, 58%). Both regimens consisted of etoposide 200 mg/m²/day from D5 to D2, cytarabine 400 mg/m²/day from D5 to D2, melphalan 140 mg/m²/day on D1. The regimens differed in the following: we used carmustine 300 mg/m²/day on D6 in BEAM or bendamustine 160 mg/m²/day on D7 and D6 in BeEAM. Immunotherapy or targeted therapy prior to auto-HSCT was carried out in the majority of the patients ($n = 25$, 80%). The following medications were used: rituximab ($n = 20$, 65%), brentuximab vedotin ($n = 6$, 19%), nivolumab ($n = 3$, 10%), crizotinib ($n = 2$, 6%). Temporary three-lineage grade IV cytopenia was observed in all patients after auto-HSCT. Grade III–IV mucositis was registered in 10 (30%) patients, and 3 (10%) children developed grade III–IV infectious complications. Transplant-related mortality was not registered. During the follow-up period, six (19%) patients died due to the underlying disease progression. At the median follow-up of 888 (66–3375) days, the 5-year overall (OS) and event-free (EFS) survival rates were 70% (95% CI: 43–86) and 62% (95% CI: 41–80), respectively. The cumulative incidence of relapse was 38% (95% CI: 20–58). Based on the data obtained in our work, we can conclude that the use of targeted or immunotherapy provides a statistically significant improvement in overall survival (OS) ($p = 0.013$). This is associated with both factors: a more sustained remission prior to auto-HSCT and the availability of effective treatment for some patients (mainly for the patients with anaplastic large cell lymphoma) in case of relapse after auto-HSCT. The achieved long-term survival rate is comparable or even slightly superior to the data previously obtained by other researchers. Almost one third of the patients suffered from primary mediastinal large B-cell lymphoma, and this is one of the possible reasons for higher long-term OS and EFS rates compared to the previously published results. Moreover, the presence of 6 patients with R/R anaplastic large cell lymphoma with a more favorable prognosis, and, probably, the absence of the morphological confirmation of R/R NHL ("second look") in some patients ($n = 20$, 65%) could have influenced the survival rates, which does not exclude the possible inclusion of a number of cured patients in the work. The importance of our work lies in the fact that a significant part of the patients ($n = 25$, 80%) underwent targeted or immunotherapy. This allowed us to show the effectiveness of transplantation in different types of NHL in children in the so-called era of immunotherapy. Auto-HSCT is an effective and relatively safe treatment strategy for children with R/R NHL which makes it possible to achieve a cure in a significant number of patients. The use of targeted and immunotherapy improves the prognosis in transplanted patients. A second biopsy is recommended to confirm R/R NHL.

Key words: autologous hematopoietic stem cell transplantation, children, non-Hodgkin lymphoma

Kozlov A.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 53–64.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-53-64

В структуре онкологической заболеваемости злокачественные лимфомы занимают третье место по частоте у детей, уступая лишь лейкозам и опухолям центральной нервной системы. Риск развития неходжкинских лимфом (НХЛ) нарастает с возрастом и наибольший у пожилых [1]. В отличие от взрослых у детей обычно наблюдаются агрессивные виды НХЛ [2]. До 18 лет встречается всего несколько вариантов НХЛ: лимфобластная лимфома (ЛЛЛ), анапластическая крупноклеточная лимфома (АККЛ), диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ), первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома (ПМВККЛ) и лимфома Беркитта (ЛБ). Значительно реже диагностируются фолликулярная и периферическая Т-клеточная (ПТКЛ) лимфомы. Другие варианты НХЛ регистрируются казуистически редко. В развитых странах неблагоприятное в прогностическом плане рефрактерное или рецидивирующее течение (Р-Р) НХЛ отмечается в 10–25% случаев, а в государствах с низким и средним уровнем доходов этот показатель может быть выше [3]. Эффективная, но высокотоксичная терапия первой линии приводит к тому, что в случае развития Р-Р НХЛ добиться ремиссии очень сложно вследствие химиорезистентности [4]. Современные способы таргетной и иммунотерапии увеличивают шанс на достижение ответа, но без применения трансплантации даже эти инновационные методы обычно не приводят к излечению пациента [5]. Не вызывает сомнений, что аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) с высокодозной полихимиотерапией (ПХТ) является стандартным методом консоли-

дации второй ремиссии в случае развития рецидива или первой ремиссии при рефрактерном течении у взрослых пациентов с НХЛ (за исключением ЛЛЛ, при которой предпочтительнее использовать аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК)) [6, 7]. В педиатрии по аналогии с пациентами старше 18 лет используется идентичный алгоритм, однако его доказательная база в отличие от взрослых слабее, так как отсутствуют рандомизированные клинические исследования и в целом число пациентов невелико, что затрудняет проведение анализа. В связи с наличием значительного числа нерандомизированных исследований, подтверждающих преимущества трансплантации (таблица 1), планирование и реализация прямого сравнения ауто-ТГСК и ПХТ в педиатрии в рамках рандомизированного исследования не представляются возможными, в первую очередь по этическим соображениям [8]. Несмотря на то, что трансплантация не способна принципиально изменить прогноз у всех детей с Р-Р НХЛ, без этого метода излечение не может быть достигнуто. С учетом того, что большая часть работ, посвященных ауто-ТГСК у детей с Р-Р НХЛ, опубликована более 10 лет назад, современные данные по этому вопросу представляют большой интерес из-за широкого внедрения эффективных методов таргетной и иммунотерапии за последнее десятилетие.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета

Таблица 1

Эффективность ауто-ТГСК у пациентов с Р-Р НХЛ

Table 1

Table 1
The effectiveness of auto-HSCT in patients with R/R NHL

Автор Author	Число пациентов Number of patients	Вариант НХЛ Subtype of NHL	Дети/ взрослые Children/ adults	РК Conditioning regimen	TRM, %	ОВ, % OS, %	БСВ, % EFS, %
H.A. Loiseau, 1991 [9]	24	Все All	Дети Children	BuCy BuMel	0	33	N/A
T. Philip, 1993 [10]	15	ЛБ, ДВККЛ LB, DLBCL	Дети Children	BEAC, BEAM	N/A	N/A	27
T. Philip, 1995 [6]	109	Все All	Взрослые Adults	BEAC	6	5-летняя (53) 5-year (53)	5-летняя (46) 5-year (46)
R. Ladenstein, 1997 [11]	89	В-НХЛ B-NHL	Дети Children	Разные Different	11	N/A	5-летняя (37–56) 5-year (37–56)
T. Kewalramani, 2006 [12]	110	ДВККЛ, ПТКЛ DLBCL, PTCL	Взрослые Adults	Разные Different	N/A	5-летняя (ДВККЛ – 34, ПТКЛ – 24) 5-year (DLBCL – 34, PTCL – 24)	5-летняя (ДВККЛ – 39, ПТКЛ – 33) 5-year (DLBCL – 39, PTCL – 33)
S.C. Won, 2006 [13]	36	ЛЛ, ДВККЛ, ЛБ LL, DLBCL, LB	Дети Children	Разные Different	6	2-летняя (60) 2-year (60)	2-летняя (59) 2-year (59)
T.G. Gross, 2010 [14]	90	Все All	Дети Children	Разные Different	24	N/A	5-летняя (ДВККЛ – 52, ЛБ – 27, АККЛ – 35, ЛЛ – 4) 5-year (DLBCL – 52 LB – 27, ALCL – 35, LL – 4)
P. Anoop, 2012 [8]	26	В-НХЛ B-NHL	Дети Children	BEAM	N/A	56	N/A
L. Giulino-Roth, 2013 [15]	15	Все All	Дети Children	Разные Different	13	10-летняя (55) 10-year (55)	10-летняя (53) 10-year (53)
A. Jourdain, 2015 [16]	33	В-НХЛ B-NHL	Дети Children	BEAM	9	5-летняя (30) 5-year (30)	N/A
N. Fujita, 2019 [17]	31	В-НХЛ B-NHL	Дети Children	N/A	3	5-летняя (55) 5-year (55)	N/A
F. Knörr, 2020 [18]	23	АККЛ ALCL	Дети Children	BEAM	9	5-летняя (82) 5-year (82)	5-летняя (41) 5-year (41)

Примечание. В-НХЛ – В-зрелоклеточные НХЛ; ВuСу – бусульфан, циклофосфан; ВuMel – бусульфан, мелфалан; BEAC – кармустин, этопозид, цитозар, циклофосфан; BEAM – кармустин, этопозид, цитозар, мелфалан; BAM – бусульфан, цитозар, мелфалан; TRM – трансплантационная летальность; OB – общая выживаемость; BCB – бессобытийная выживаемость, N/A – не применимо.

общая выживаемость, БСВ – бессобытийная выживаемость, N/A – не применимо.
 Note. LB – Burkitt's lymphoma (LB); DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; B-NHL – mature B-cell non-Hodgkin lymphomas; PTCL – peripheral T-cell lymphoma; LL – lymphoblastic lymphoma; ALCL – anaplastic large cell lymphoma; BuCy – busulphan, Cyclophosphan; BuMel – busulphan, melphalan; BEAC – carmustine, etoposide, Cytosar, Cyclophosphan; BEAM – carmustine, etoposide, Cytosar, melphalan; BAM – busulphan, Cytosar, melphalan; TRM – transplant-related mortality; OS – overall survival; EFS – event-free survival, N/A – not applicable.

ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. В НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ПСПбГМУ им И.П. Павлова с 2008 по 2020 г. ауто-ТГСК проведена 31 ребенку с Р-Р НХЛ. Характеристика пациентов представлена в *таблице 2*. Медиана возраста на момент трансплантации составила 14 (2–18) лет. Стадирование проводили на основании модифицированной классификации Murphy [19]. У большинства пациентов ($n = 30$, 97%) в дебюте отмечали III или IV стадию, при этом поражение центральной нервной системы зарегистрировано у 4 (13%), костного мозга – у 2 (6%) больных. Наблюдали следующие гистологические варианты: ПМВККЛ ($n = 11$, 35%), АККЛ ($n = 6$, 19%), ЛБ ($n = 5$, 16%), ДВККЛ ($n = 5$, 16%), ПТКЛ ($n = 2$, 7%), В-НХЛ неуточненная ($n = 1$, 3%) и ЛЛ ($n = 1$, 3%). Соматический статус по шкале Карновского перед трансплантацией у всех пациентов был $\geq 90\%$. Медиана времени от постановки диагноза до ауто-ТГСК составила 304 (122–3888) дня. Медиана предшествующих линий терапии равнялась 2 (1–4). Первую линию терапии у большей части пациентов ($n = 27$, 87%) проводили в соответствии с принципами.

разработанными группой BFM, у 4 (13%) больных старшего возраста использовали схемы на основе CHOP. В качестве второй линии терапии у 18 (58%) больных проведена схема R-ICE (ритуксимаб, ифосфамид, карбоплатин, этопозид), у остальных пациентов использовали другие схемы. Течение НХЛ было рецидивирующим ($n = 14$, 45%) или рефрактерным ($n = 17$, 55%). Гистологическое подтверждение Р-Р НХЛ проведено у 11 (35%) человек, в остальных случаях диагноз был установлен на основании визуализационных методов диагностики и их корреляции с клинической картиной. Статус по основному заболеванию перед ауто-ТГСК оценивали по критериям Lugano [20]. Ремиссии перед ауто-ТГСК удалось достичь в 90% ($n = 28$) случаев, при этом полную ремиссию (ПР) наблюдали в 39% ($n = 8$), а частичную (ЧР) – в 51% ($n = 16$) случаев. Троим (10%) пациентам трансплантацию проводили вне ремиссии. Первая ремиссия на момент ауто-ТГСК диагностирована у 14 (45%) детей и вторая ремиссия – также у 14 (45%) пациентов. Первая ПР (ПР1) зафиксирована у 5 (16%) детей, первая ЧР (ЧР1) – у 9 (29%), вторая ПР (ПР2) –

Таблица 2
Характеристика пациентов

Table 2
Patient characteristics

№	Возраст, годы Age, years	Вариант НХЛ Subtype of NHL	Реф/ рец Ref/rel	Терапия до ауто-ТГСК Treatment prior to auto-HSCT	Повторная биопсия Second biopsy	Статус перед ТГСК Status prior to HSCT	Наблюдение, дни Follow-up, days	Исход Outcome
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	17	ЛБ LB	Реф Ref	BFM NHL 2004	Нет No	ПР1 CR1	1127	Жив, ремиссия Alive, remission
2	18	В-НХЛ неуточненная Unspecified B-NHL	Реф Ref	EPOCH-R, R-ICE	Да Yes	Стабилизация Stable diseases	888	Жив, ремиссия Alive, remission
3	7	АККЛ ALCL	Рец Rel	ALCL-99, ALCL relapse 2004, CVA	Да Yes	ПР2 CR2	236	Жив, ремиссия Alive, remission
4	18	ПМВККЛ PMBCL	Реф Ref	B-NHL 2010, R-DHAP	Нет No	ЧР1 PR1	689	Умер, прогрессия Died, progression
5	15	ПМВККЛ PMBCL	Реф Ref	B-NHL M 2010, R-ICE	Нет No	ЧР1 PR1	645	Жив, ремиссия Alive, remission
6	13	АККЛ ALCL	Рец Rel	NHL-BFM 92, ICE	Нет No	ПР2 CR2	888	Умер, прогрессия Died, progression
7	18	ПМВККЛ PMBCL	Рец Rel	R-CHOP, R-CHOEP-14	Нет No	ПР2 CR2	3375	Жив, ремиссия Alive, remission
8	4	ЛБ LB	Реф Ref	BFM NHL 2004	Нет No	ЧР1 PR1	3792	Жив, ремиссия Alive, remission
9	12	ПМВККЛ PMBCL	Реф Ref	B-NHL M 2010, IGEV, ниволумаб + брентуксимаб ведотин B-NHL M 2010, IGEV, nivolumab + brentuximab vedotin	Нет No	ЧР2 PR2	688	Жив, ремиссия Alive, remission
10	13	ДВККЛ DLBCL	Рец Rel	B-NHL M 2010, R-ICE, R-DHAP	Нет No	ПР2 CR2	2787	Жив, ремиссия Alive, remission
11	13	ПМВККЛ PMBCL	Реф Ref	B-NHL M 2010, R-ICE	Нет No	ЧР1 PR1	814	Жив, ремиссия Alive, remission
12	14	ДВККЛ DLBCL	Реф Ref	B-NHL M 2010, R-ICE	Нет No	ЧР1 PR1	2796	Жив, ремиссия Alive, remission
13	18	ПМВККЛ PMBCL	Рец Rel	R-EPOCH, R-ICE	Нет No	ПР2 CR2	538	Жив, ремиссия Alive, remission
14	16	ДВККЛ DLBCL	Рец Rel	B-NHL M 2010, R-ICE	Да Yes	ЧР2 PR2	261	Умер, прогрессия Died, progression
15	17	АККЛ ALCL	Рец Rel	ALCL99, ALCL-REZ 2016 с кризотинибом, ICE + брентуксимаб ведотин ALCL99, ALCL-REZ 2016 with crizotinib, ICE + brentuximab vedotin	Да Yes	ПР2 CR2	66	Жив, ремиссия Alive, remission
16	17	ДВККЛ DLBCL	Рец Rel	R-CHOP, R-DHAP	Нет No	ЧР2 PR2	2140	Жив, ремиссия Alive, remission
17	7	ЛБ LB	Реф Ref	B-НХЛ 2010M, R-ICE B-NHL 2010M, R-ICE	Нет No	ПР1 CR1	471	Жив, ремиссия Alive, remission
18	6	ПТКЛ PTCL	Реф Ref	SMILE, FLAG, гемзар + ниволумаб SMILE, FLAG, Gemzar + nivolumab	Да Yes	ПР1 CR1	888	Жив, прогрессия Alive, progression
19	2	АККЛ ALCL	Рец Rel	NHL-BFM 90, R-ICE	Да Yes	ЧР1 PR1	2324	Жив, прогрессия Alive, progression
20	13	АККЛ ALCL	Рец Rel	NHL-BFM 2012, винбластин метотрексат, ICE + брентуксимаб ведотин NHL-BFM 2012, vinblastine, methotrexate, ICE + brentuximab vedotin	Да Yes	Прогрессия Progression	301	Жив, ремиссия Alive, remission

1	2	3	4	5	6	7	8	9
21	16	ПМВККЛ PMBCL	Рец Rel	B-NHL M 2004, R-ICE, IGEV	Да Yes	ПР2 CR2	1180	Умер, прогрессия Died, progression
22	14	ПМВККЛ PMBCL	Реф Ref	B-NHL M 2010, R-ICE	Нет No	ЧР1 PR1	1057	Жив, ремиссия Alive, remission
23	17	ПМВККЛ PMBCL	Реф Ref	NHL-BFM-M 2004, R-ICE	Нет No	ЧР1 PR1	1963	Жив, ремиссия Alive, remission
24	8	ДВККЛ DLBCL	Рец Rel	НХЛ –BFM 90м, R-ICE	Нет No	ЧР2 PR2	627	Жив, ремиссия Alive, remission
25	17	ПМВККЛ PMBCL	Реф Ref	B-NHL, R-ICE, nivo	Нет No	ПР1 CR1	908	Жив, ремиссия Alive, remission
26	13	ПТКЛ PTCL	Рец Rel	NHL-BFM-90, CHOP	Нет No	ПР2 CR2	676	Умер, прогрессия Died, progression
27	14	АККЛ ALCL	Рец Rel	NHL-BFM-95, ICE №1	Да Yes	ЧР2 PR2	1457	Жив, прогрессия Alive, progression
28	17	ПМВККЛ PMBCL	Реф Ref	B-NHL M 2010, R-ICE	Нет No	ПР2 CR2	841	Жив, ремиссия Alive, remission
29	16	ЛБ LB	Реф Ref	BFM NHL 2004, R-ICE	Нет No	ПР1 CR1	2237	Жив, ремиссия Alive, remission
30	4	ЛБ LB	Реф Ref	B-NHL M 2010, R-ICE	Да Yes	ЧР1 PR1	1326	Жив, ремиссия Alive, remission
31	13	ЛЛ LL	Реф Ref	ALL-BFM 2002, Hyper-CVAD	Да Yes	Стабилизация Stable disease	561	Умер, прогрессия Died, progression

Примечание. реф – рефрактерное течение; рец – рецидивирующее течение.

Note. ref – refractory disease; rel – relapse; CR1 – complete remission 1; CR2 – complete remission 2; PR1 – partial remission 1; PR2 – partial remission 2.

у 9 (29%) и вторая ЧР (ЧР2) – у 5 (16%). Пациентам в ПР1 ауто-ТГСК проведена вследствие сложности с достижением ремиссии из-за рефрактерного течения НХЛ. Пациентов с ПМВККЛ и остаточной метаболически активной опухолью (Deuaville 4–5 по данным позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией) расценивали как больных в ЧР. Иммунохимиотерапию или таргетную терапию до ауто-ТГСК проводили у большинства пациентов ($n = 25$, 80%). Использовали следующие препараты: ритуксимаб ($n = 20$, 65%), брентуксимаб ведотин ($n = 6$, 19%), ниволумаб ($n = 3$, 10%), кризотиниб ($n = 2$, 6%).

Источником трансплантата были периферические гемопоэтические стволовые клетки ($n = 19$, 61%) и костный мозг ($n = 12$, 39%). Медиана CD34⁺/кг составила 3,85 (2–7,6). В качестве режима кондиционирования применяли ВЕАМ ($n = 13$, 42%) и ВеЕАМ ($n = 18$, 58%). Оба режима состояли из этопозида 200 мг/м²/сут с Д5 по Д2, цитарабина 400 мг/м²/сут с Д5 по Д2, мелфалана 140 мг/м²/сут на Д1. Схемы отличались использованием кармустина 300 мг/м²/сут на Д6 в случае ВЕАМ или бендамустина 160 мг/м²/сут на Д7 и Д6 при ВеЕАМ. Токсичность высокодозной ПХТ с ауто-ТГСК оценивали на основании критериев СТСАЕ (общая терминология критериев побочных эффектов).

Статистический анализ осуществляли с помощью программы EZR (Easy R). Для расчета ОВ и БСВ использовали метод Каплана–Майера. Событием при расчете БСВ являлись смерть, рецидив или прогрессия основного заболевания. Влияние различных факторов на выживаемость исследовалось с помощью регрессии Кокса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У всех пациентов отмечали временную трехростковую цитопению IV степени. Мукозит III–IV степени зарегистрирован у 10 (30%) пациентов и инфекционные осложнения III–IV степени – у 3 (10%) детей. Трансплантационной летальности зарегистрировано не было. За время наблюдения 6 (19%) больных умерли из-за прогрессии основного заболевания.

При медиане наблюдения 888 (66–3375) дней 5-летняя ОВ и БСВ составили 70% (95% доверительный интервал (ДИ) 43–86) и 62% (95% ДИ 41–80) соответственно (рисунки 1).

Кумулятивная частота рецидива составила 38% (95% ДИ 20–58) (рисунки 2). Восстановление уровня нейтрофилов ($> 0,5$ тыс. в 1 мкл) происходило с медианой 14 (8–29) дней, восстановление тромбоцитов (> 20 тыс. в 1 мкл) с медианой 20 (12–42) дней. В случае развития рецидива или прогрессирования

после ауто-ТГСК ($n = 10$) достижение длительной ремиссии наблюдали после проведения алло-ТГСК у 4 пациентов с ПТКЛ (из них 3 с АККЛ).

При однофакторном анализе факторов, потенциально способных оказать влияние на прогноз, только применение таргетной или иммунотерапии было связано с лучшей ОВ ($p = 0,013$). Остальные факторы не влияли на ОВ (таблица 3). В то же время при однофакторном анализе наличие повторной биопсии для подтверждения Р-Р НХЛ, не В-НХЛ, рецидивирующее течение и схемы второй линии терапии, отличные от ICE, были ассоциированы с более низкой БСВ (таблица 4). Но при многофакторном анализе ни один из вышеперечисленных факторов статистически значимо не оказывал влияния на БСВ (таблица 5). Тем не менее наличие морфологически верифицированного после повторной биопсии диагноза Р-Р НХЛ продемонстрировало наиболее близкие к статистически значимым различиям значения ($p = 0,07$).

Рисунок 1
ОВ и БСВ детей с Р-Р НХЛ после ауто-ТГСК

Figure 1
OS and EFS in children with R/R NHL after auto-HSCT

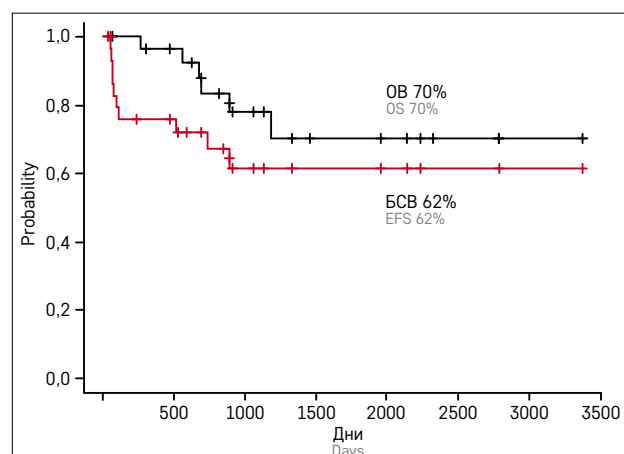
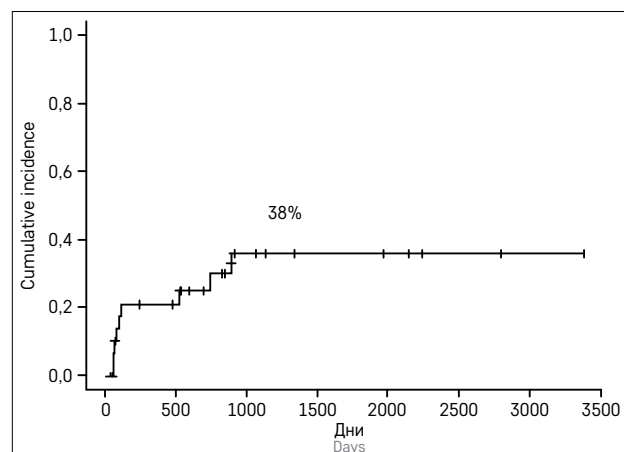


Рисунок 2
Кумулятивная частота развития рецидива/прогрессирования у детей с Р-Р НХЛ после ауто-ТГСК

Figure 2
The cumulative incidence of relapse/progression in children with R/R NHL after auto-HSCT



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ауто-ТГСК при НХЛ применяют в мире с 70-х годов прошлого века, и накопленный опыт позволяет считать этот метод «золотым стандартом» лечения детей с Р-Р НХЛ [17, 21]. Отсутствие в настоящий момент достаточно эффективной терапии второй линии при Р-Р НХЛ придает особую важность терапии первой линии, так как в случае возникновения рецидива или рефрактерности вылечить пациента очень сложно. В обсуждаемой работе у большинства детей ($n = 27$, 87%) в качестве терапии первой линии использовались протоколы лечения на основе принципов группы BFM, что позволяет первую линию терапии признать адекватной. Используемые схемы терапии второй линии имеют приблизительно одинаковую невысокую эффективность, составляющую около 30–40% [22]. Одной из наиболее популярных схем второй линии терапии является R-ICE, также могут применяться режимы CYVE (циклофосфамид этопозид), R-DHAP (ритуксимаб, дексаметазон, цитарабин, цисплатин), VENOMID (виндезин, митоксантрон, метилпреднизолон, ифосфамид), ICN (ифосфамид, карбоплатин и митоксантрон) и др. [16]. В обсуждаемой работе в качестве второй линии терапии преимущественно применяли схему R-ICE ($n = 18$, 58%). Вероятно, имеет значение, какую схему терапии использовать в качестве второй линии перед ауто-ТГСК. Так, известно, что применение протокола DECAL (дексаметазон, этопозид, цисплатин, цитарабин, L-аспаргиназа) не приводит к улучшению прогноза после ауто-ТГСК [23]. Вполне возможно, что

Таблица 3
Влияние различных факторов на ОВ (однофакторный анализ)

Table 3
The influence of various factors on OS (univariate analysis)

Фактор Factor	HR	Нижний 95% ДИ Lower 95% CI	Верхний 95% ДИ Upper 95% CI	p
Пол Gender	0,89	0,16	4,9	0,89
Другие НХЛ против В-НХЛ Other NHLs vs B-NHL	2,4	0,5	13	0,28
Отсутствие повторной биопсии No second biopsy	0,19	0,02	1,9	1,19
Отсутствие иммуно-/таргетной терапии No immuno-/targeted therapy	9,6	1,6	58	0,013
Количество линий терапии Number of lines of therapy	0,7	0,12	3,9	0,7
ПР против ЧР CR vs PR	0,46	0,08	2,8	0,4
Ремиссия 2 против ремиссии 1 Remission 2 vs remission 1	5	0,56	46	0,16
Рефрактерность против рецидива Refractory vs relapsed	0,27	0,05	1,5	0,14
Другие схемы против ICE Other regimens vs ICE	2,7	0,5	3,5	0,2

современные способы иммунотерапии и таргетной терапии способны изменить ситуацию в этой области, однако отсутствие понимания об их оптимальном применении и низкая доступность (зачастую только в рамках клинических исследований) не позволяют пока говорить о переломе в судьбе детей с Р-Р НХЛ, за исключением АККЛ. Тем не менее по полученным в нашей работе данным можно заключить, что использование таргетной или иммунотерапии ассоциировано со статистически значимым повышением ОВ ($p = 0,013$). Это связано как с более качественной ремиссией перед ауто-ТГСК, так и с наличием эффективного лечения для части пациентов (главным образом при АККЛ) в случае рецидива после ауто-ТГСК. Достигнутые в представленной работе у детей с Р-Р НХЛ после ауто-ТГСК долгосрочные ОВ (70%) и БСВ (62%) сопоставимы или даже несколько превосходят полученные ранее данные (таблица 1). Любопытно, что уже в 80-х годах

Таблица 4
Влияние различных факторов на БСВ (однофакторный анализ)

Table 4
The influence of various factors on EFS (univariate analysis)

Фактор Factor	HR	Нижний 95% ДИ Lower 95% CI	Верхний 95% ДИ Upper 95% CI	p
Пол Gender	0,97	0,25	3,7	0,97
Другие НХЛ против В-НХЛ Other NHLs vs B-NHL	8,2	2,1	32	0,003
Отсутствие повторной биопсии No second biopsy	0,06	0,007	0,48	0,009
Отсутствие иммуно-/таргетной терапии No immuno-/targeted therapy	1,6	0,42	6,4	0,4
Количество линий терапии Number of lines of therapy	1,2	0,5	2,8	0,6
ПР против ЧР CR vs PR	0,7	0,2	2,9	0,6
Ремиссия 2 против ремиссии 1 Remission 2 vs remission 1	1,2	0,5	2,8	0,6
Резистентность против рецидива Refractory vs relapsed	0,2	0,05	0,8	0,02
Другие схемы против ICE Other regimens vs ICE	4,7	1,2	17,5	0,02

Таблица 5
Влияние различных факторов на БСВ (многофакторный анализ)

Table 5
The influence of various factors on EFS (multivariate analysis)

Фактор Factor	HR	Нижний 95% ДИ Lower 95% CI	Верхний 95% ДИ Upper 95% CI	p
Другие НХЛ против В-НХЛ Other NHLs vs B-NHL	1,9	0,35	10,1	0,45
Отсутствие повторной биопсии No second biopsy	0,09	0,007	1,1	0,07
Резистентность против рецидива Refractory vs relapsed	0,9	0,2	4,4	0,92
ICE против других схем ICE vs other regimens	0,09	0,07	1,2	0,9

прошлого века исследователи ясно осознавали, что возможности химиотерапии при Р-Р НХЛ исчерпаны, и связывали дальнейшие успехи именно с таргетной и иммунотерапией [8].

Существует точка зрения, что ауто-ТГСК при Р-Р ДВККЛ может быть эффективна не только во второй, но и в третьей линии терапии при условии достижения ремиссии [24]. Эти результаты могут быть основанием для попыток проведения дальнейшей терапии при В-зрелоклеточных лимфомах, по крайней мере при ДВККЛ и ПМВККЛ, в случае неэффективности второй линии. Возможно, что и количество предшествующих линий терапии, несмотря на общепризнанную значимость, может не оказывать принципиального влияния на прогноз при определенных условиях. Так, даже значительно предлеченные пациенты могут выиграть от проведения ауто-ТГСК в случае достижения ремиссии [25].

По данным Центра международных исследований трансплантации крови и костного мозга, у детей ауто-ТГСК предпочтительнее использовать при В-зрелоклеточных лимфомах, в то время как при ЛЛ и, возможно, при АККЛ более обоснованным является применение алло-ТГСК [14, 18]. Вероятно, при В-НХЛ у детей реакция «трансплантат против опухоли» либо отсутствует, либо достаточно слабая. Преимуществом алло-ТГСК также является отсутствие в трансплантате опухолевых клеток. В то же время более низкая трансплантационная летальность является сильным аргументом в пользу ауто-ТГСК.

Место трансплантации при часто встречающихся лимфомах у детей определено, что нельзя сказать про более редкие нозологические варианты. И здесь приходится полностью полагаться на опыт, накопленный в лечении взрослых больных. К сожалению, применение ауто-ТГСК при Р-Р ПТКЛ позволяет вылечить лишь треть пациентов, а значит, остро необходимы другие подходы в терапии. Возможно, алло-ТГСК, таргетная и иммунотерапия способны улучшить прогноз этой группы больных [26].

Проведение ауто-ТГСК у пациентов с Р-Р ПМВККЛ в случае достижения PR1 или PR2 сопряжено с относительно благоприятным прогнозом и высокой долгосрочной БСВ у взрослых [27]. Вероятно, что и дети с Р-Р ПМВККЛ также будут иметь лучший прогноз по сравнению с другими В-НХЛ. Оптимальный подход к ведению детей с ПМВККЛ и наличием остаточного метаболического образования по завершении программной ПХТ не определен. Так, пациенты с остаточными массами, градуированными в 4 балла по шкале Deauville по результатам позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, большей частью уже находятся в ПР. В то же время при оценке по шкале Deauville 5 баллов у значительного числа будет сохраняться жизнеспособность

собная опухолевая ткань [28]. В связи с этой неопределенностью мы включали пациентов с ПМВККЛ и метаболически активной остаточной опухолью в группу первично рефрактерных и выполняли ауто-ТГСК. Так как среди этих пациентов, возможно, уже были излеченные, то это могло повлиять на конечные показатели ОВ. Почти треть больных в исследовании страдали ПМВККЛ, и это одна из возможных причин более высокой долгосрочной ОВ и БСВ по сравнению с ранее опубликованными данными. Также на показатели выживаемости могло повлиять наличие 6 пациентов с Р-Р АККЛ, имеющих более благоприятный прогноз, активное использование таргетной и иммунотерапии и, вероятно, отсутствие морфологического подтверждения Р-Р НХЛ ("second look") у части больных ($n = 20$, 65%), что не исключает возможное включение в работу ряда излеченных пациентов. Последний фактор был очень близок к статистической значимости при многофакторном анализе ($p = 0,07$). Исследований, посвященных роли повторной биопсии у детей с Р-Р НХЛ, очень мало, и этот вопрос на сегодня остается открытым. В одной из последних работ М. Саи склоняется к необходимости проведения повторной биопсии в сомнительных случаях В-НХЛ у детей [29]. В соответствии с международными рекомендациями также желательно проведение биопсии в случае метаболически активного остаточного образования после окончания программной терапии, но эти рекомендации разработаны для взрослых [30]. По данным литературы, до настоящего времени нет четких рекомендаций о необходимости гистологического подтверждения Р-Р НХЛ у детей. В целом большинство авторов одновременно используют как морфологические, так и только визуализационные методы верификации наличия активной опухолевой ткани, не делая из первого абсолютно необходимой опции [8, 13, 23]. Мы согласны, что необходимо стремиться к морфологическому подтверждению рецидива или рефрактерности, так как есть значимый риск гипердиагностики и, соответственно, избыточной терапии, если основываться только на данных методов визуализации. Тем не менее с учетом того, что у детей почти все НХЛ имеют агрессивное течение, даже короткое время, потраченное на организацию биопсии и последующую гистологическую верификацию, может привести к значимому увеличению опухолевой массы и существенно снизить потенциальную эффективность терапии второй линии. Поэтому в случае труднодоступных или малоразмерных подозрительных очагов, на наш взгляд, оптимальным при наличии убедительных изменений по данным методов визуализации является начало терапии второй линии. Особенно это справедливо для В-зрелоклеточных лимфом, в то время как для АККЛ или ЛЛ может быть выбрана

тактика динамического наблюдения за изменением размеров очагов и проведение биопсии при отчетливом увеличении. Также следует помнить, что выполнение морфологического исследования подозрительных очагов не всегда является гарантией правильного диагноза, так как биопсия может быть выполнена из неактивного участка или результаты неверно проанализированы морфологом вследствие терапевтического патоморфоза. Таким образом, только комплексная оценка всей имеющейся информации (визуализация, динамика, гистология) могут приблизить врача к истинному положению вещей, но и то с некоторой степенью вероятности, особенно если учесть цейтнот, существующий при агрессивных В-НХЛ. Лечащий врач сталкивается с ситуацией, когда он работает не с абсолютными, как в математике, величинами, а с вероятностями, а значит, имеется неизбежный, хоть и небольшой, риск ошибиться в сторону гипердиагностики или несвоевременной диагностики. Конечно, еще раз повторим, что в сомнительных случаях желательно проведение биопсии, чтобы свести риск ошибки к минимуму.

Общепризнанной является необходимость достижения ремиссии перед трансплантацией, поскольку проведение ауто-ТГСК при активной болезни неэффективно [6, 16]. В анализируемой работе подавляющее большинство пациентов (90%) к трансплантации подошло в ПР или ЧР, что также обусловило высокие результаты.

Отсутствие рандомизированных исследований при детских Р-Р НХЛ с использованием ауто-ТГСК не превращает эту область в недоступную для изучения. Представляется, что роль данного вида работ для поиска медицинской истины несколько преувеличена, особенно с учетом возможных ошибок в дизайне, а также в связи с быстрым развитием методов таргетной и иммунотерапии, значительно изменяющих терапевтический ландшафт. Высокие показатели выживаемости вполне могут быть достаточным основанием для подтверждения эффективности метода даже в отсутствие возможности проведения рандомизированных исследований.

Использование ритуксимаба при В-зрелоклеточных опухолях стало общепринятым в детской практике [31, 32]. Брентуксимаб ведотин широко используется для лечения Р-Р CD30-позитивных лимфопролиферативных заболеваний, в первую очередь лимфомы Ходжкина и АККЛ [33, 34]. Ингибиторы иммунных контрольных точек также продемонстрировали эффективность при определенных типах НХЛ у детей, главным образом ПМВККЛ [35, 36]. Использование ингибиторов киназы анапластической лимфомы позволяет добиваться очередной ремиссии у пациентов с Р-Р АККЛ [37, 38]. Очень перспективным является применение CAR-T-терапии

[3, 39]. Важность проведенной нами работы заключается в том, что значительная часть пациентов ($n = 25$, 80%) прошла через этап таргетной или иммунотерапии. Это позволило показать эффективность трансплантации при разных видах НХЛ у детей в так называемую эру иммунотерапии.

Применение тотального облучения тела (TOT) не имеет преимуществ перед использованием режимов кондиционирования на основе цитостатиков [13, 40]. С учетом того, что TOT сопряжено с большим количеством серьезных отдаленных осложнений, оптимальным у детей является отказ от его применения при НХЛ [41]. По данным Центра международных исследований трансплантации крови и костного мозга, режимы BEAM, CBV (циклофосфамид, этопозид, кармустин), TOT и BuCy (бусульфид, циклофосфамид) обладают одинаковой эффективностью при лечении НХЛ в отличие от лимфомы Ходжкина, где предпочтительнее использовать схему BEAM [42]. В нашей работе использовался либо классический режим BEAM, либо его модификация BeEAM. Ранее было показано, что обе схемы сопоставимы по эффективности и токсичности [43, 44]. BEAC (кармустин, этопозид, цитарабин) применяется с 80-х годов прошлого века, и его модификация BEAM является «золотым стандартом» в настоящее время. Строго говоря, режим BEAM не является миелоаблативным, и пациенты восстанавливают гемопоэз даже без ауто-ТГСК [45]. Но без поддержки гемопоэтическими стволовыми клетками период цитопении может быть длительным и способен привести к неприемлемым осложнениям.

Проведение ауто-ТГСК неизбежно связано с развитием таких осложнений, как мукозит, цитопения, фебрильная нейтропения и др. Эти побочные эффекты настолько хорошо известны, что многие авторы ограничиваются приведением данных по трансплантационной летальности. В нашей работе токсичность режимов кондиционирования была стандартной и не отличалась от опубликованных ранее результатов [44]. Трансплантационной летальности зарегистрировано не было.

Частота развития рецидива и прогрессирования после ауто-ТГСК была относительно высокой (38%) и сопоставима с данными других исследователей. Высокая частота развития рецидива или прогрессии остается нерешенной проблемой, несмотря на применение современных методов таргетной и иммунотерапии [15, 17].

Дальнейший прогресс в лечении детей с Р-Р НХЛ, на наш взгляд, будет связан с внедрением в широкую

клиническую практику уже разработанных инновационных индивидуализированных способов терапии, а также, возможно, с использованием тандемной ауто-ТГСК в этой неблагоприятной группе пациентов. По мере углубления понимания молекулярно-биологических механизмов развития лимфом, а также, что не исключено, открытия принципиально новых вариантов лимфопролиферативных заболеваний, на основании этих знаний удастся добиться более эффективных подходов к терапии.

Представляется, что особенностью работы является большое число трансплантированных детей с Р-Р ПМВКЛЛ. Вероятно, на сегодняшний день это одно из самых крупных исследований по числу детей с НХЛ, перенесших ауто-ТГСК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ауто-ТГСК является эффективным и относительно безопасным методом лечения детей с Р-Р НХЛ, позволяющим добиться излечения у значительной части пациентов. Использование таргетной или иммунотерапии улучшает прогноз трансплантированных пациентов. Для подтверждения Р-Р НХЛ желательно проведение повторной биопсии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Kozlov A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4072-601X>

Kazantsev I.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3818-6213>

Yukhta T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5979-9182>

Tolkunova P.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2296-0358>

Gevorgyan A.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2905-8209>

Nikolayev I.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8589-4618>

Galibin A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7606-3647>

Bogdanova O.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1286-6069>

Zvyagintseva D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7435-4616>

Golenkova M.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8227-8257>

Yudintseva O.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9501-9860>

Sviridova U.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3014-3777>

Shvetsov A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7173-7673>

Baykov V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9191-5091>

Babenko E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1959-9063>

Estrina M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1259-8885>

Punarov Yu.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0445-8452>

Morozova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9605-485X>

Kulagin A.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9589-4136>

Mikhaylova N.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2913-047X>

Zubarovskaya L.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2594-7703>

Литература

- Sandlund J.T., Downing J.R., Crist W.M. Non-Hodgkin's lymphoma in childhood. *N Engl J Med* 1996; 334 (19): 1238–48.
- Волчков Е.В., Ольшанская Ю.В., Мякова Н.В. Прогностические маркеры лимфобластной лимфомы. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2020; 19 (4): 198–204.
- Moleti M.L., Testi A.M., Foà R. Treatment of relapsed/refractory paediatric aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2020; 189 (5): 826–43.
- Woessmann W. How to treat children and adolescents with relapsed non-Hodgkin lymphoma? *Hematol Oncol* 2013; 31 (Suppl 1): 64–8.
- Казанцев И.В., Лепик К.В., Моисеев И.С., Зубаровская Л.С. Современные возможности иммунотерапии злокачественных заболеваний у детей. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2020; 99 (4): 8–17.
- Philip T., Guglielmi C., Hagenbeek A., Somers R., Van der Lelie H., Bron D., et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1995; 333 (23): 1540–5.
- Stiff P. What is the role of autologous transplant for lymphoma in the current era? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2015; 2015: 74–81.
- Anoop P., Sankpal S., Stiller C., Tewari S., Lancaster D.L., Khabra K., et al. Outcome of childhood relapsed or refractory mature B-cell non-Hodgkin lymphoma and acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2012; 53 (10): 1882–8.
- Loiseau H.A., Hartmann O., Valteau D., McDowell H., Brugieres L., Vassal G., et al. High-dose chemotherapy containing busulfan followed by bone marrow transplantation in 24 children with refractory or relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 1991; 8 (6): 465–72.
- Philip T., Hartmann O., Pinkerton R., Zucker J.M., Gentet J.C., Lamagnere J.P., et al. Curability of relapsed childhood B-cell non-Hodgkin's lymphoma after intensive first line therapy: a report from the Société Française d'Oncologie Pédiatrique. *Blood* 1993; 81 (8): 2003–6.
- Ladenstein R., Pearce R., Hartmann O., Patte C., Goldstone T., Philip T. High-dose chemotherapy with autologous bone marrow rescue in children with poor-risk Burkitt's lymphoma: a report from the European Lymphoma Bone Marrow Transplantation Registry. *Blood* 1997; 90 (8): 2921–30.
- Kewalramani T., Zelenetz A.D., Teruya-Feldstein J., Hamlin P., Yahalom J., Horwitz S., et al. Autologous transplantation for relapsed or primary refractory peripheral T-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2006; 134: 202–7.
- Won S.C., Han J.W., Kwon S.Y., Shin H.Y., Ahn H.S., Hwang T.J., et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation in children with non-Hodgkin's lymphoma: A report from the Korean society of pediatric hematology-oncology. *Ann Hematol* 2006; 85 (11): 787–94.
- Gross T.G., Hale G.A., He W., Camitta B.M., Sanders J.E., Cairo M.S., et al. Hematopoietic stem cell transplantation for refractory or recurrent non-Hodgkin lymphoma in children and adolescents. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16 (2): 223–30.
- Giulino-Roth L., Ricafort R., Kernan N.A., Small T.N., Trippett T.M., Steiner P.G., et al. Ten-year follow-up of pediatric patients with non-Hodgkin lymphoma treated with allogeneic or autologous stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60 (12): 2018–24.
- Jourdain A., Auperin A., Minard-Colin V., Aladjidi N., Zsiros J., Coze C., et al. Outcome and prognostic factors of relapse in children and adolescents with mature B-cell lymphoma and leukaemia treated in 3 consecutive prospective lymphomas malins B protocols. *Study of the Societe Francaise des Cancers de l'Enfant. Haematologica* 2015; 100: 810–7.
- Fujita N., Kobayashi R., Atsuta Y., Iwasaki F., Suzumiya J., Sasahara Y., et al. Hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Int J Hematol* 2019; 109 (4): 483–90.
- Knörr F., Brugieres L., Pilon M., Zimmermann M., Ruf S., Attarbaschi A., et al. European Inter-Group for Childhood Non-Hodgkin Lymphoma. Stem Cell Transplantation and Vinblastine Monotherapy for Relapsed Pediatric Anaplastic Large Cell Lymphoma: Results of the International, Prospective ALCL-Relapse Trial. *J Clin Oncol* 2020; 38 (34): 3999–4009.
- Rosolen A., Perkins S.L., Pinkerton C.R., Guillerman G.R., Sandlund J.T., Reiter A., et al. Revised International Pediatric Non-Hodgkin Lymphoma Staging System. *J Clin Oncol* 2015; 33 (18): 2112–8.
- Cheson B.D., Fisher R.I., Barrington S.F., Cavalli F., Schwartz L.H., Zucca E., et al. Recommendations for Initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol* 2014; 32 (27): 3059–68.
- Appelbaum F.R., Deisseroth A.B., Graw Jr R.G., Herzig G.P., Levine A.S., Magrath I.T., et al. Prolonged complete remission following high dose chemotherapy of Burkitt's lymphoma in relapse. *Cancer* 1978; 41: 1059–63.
- Валиев Т.Т. Клиническая характеристика и результаты терапии рецидивов/рефрактерных форм неходжкинских лимфом у детей: обзор литературы и анализ собственных данных. *Онкогематология* 2018; 13 (2): 21–31.
- Kobrinisky N.L., Spoto R., Shah N.R., Anderson J.R., DeLaat C., Morse M., et al. Outcomes of treatment of children and adolescents with recurrent non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease with dexamethasone, etoposide, cisplatin, cytarabine, and l-asparaginase, maintenance chemotherapy, and transplantation: Children's Cancer Group Study CCG5912. *J Clin Oncol* 2001; 19 (9): 2390–6.
- Van Den Neste E., Schmitz N., Mounier N., Gill D., Linch D., Trneny M., et al. Outcome of patients with relapsed diffuse large B-cell lymphoma who fail second-line salvage regimens in the International CORAL study. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (1): 51–7. DOI:10.1038/bmt.2015.213
- Colita A., Colita A., Bumbea H., Croitoru A., Orban C., Lipan L.E., et al. LEAM vs. BEAM vs. CLV Conditioning Regimen for Autologous Stem Cell Transplantation in Malignant Lymphomas. Retrospective Comparison of Toxicity and Efficacy on 222 Patients in the First 100 Days After Transplant, On Behalf of the Romanian Society for Bone Marrow Transplantation. *Front Oncol* 2019; 9: 892.
- Lepik E.E., Kozlov A.V., Borzenkova E.S., Zalyalov Y.R., Lepik K.V., Kondakova E.V., et al. Treatment options for T-cell lymphomas: a single-center study. *Cell Ther Transplant* 2020; 9 (1): 28–37.
- Avivi I., Boumendil A., Finel H., Nagler A., de Sousa A.B., Santasusana J.M.R., et al. Autologous stem cell transplantation for primary mediastinal B-cell lymphoma: long-term outcome and role of post-transplant radiotherapy. A report of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53 (8): 1001–9.
- Giulino-Roth L. How I treat primary mediastinal B-cell lymphoma. *Blood* 2018; 132 (8): 782–90.
- Cai M., Wang T., Pan C., Gao Y., Zhou M., Hu W., et al. Investigating the potential benefit of second biopsy of residual mass

- in pediatric mature B cell non-Hodgkin lymphoma. *Pediatr Hematol Oncol* 2019; 36 (2): 113–21.
30. Barrington S.F., Mikhaeel N.G., Kostakoglou L., Meignan M., Hutchings M., Müller S.P., et al. Role of Imaging in the Staging and Response Assessment of Lymphoma: Consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol* 2014; 32 (27): 3048–58.
 31. Maschan A., Myakova N., Aleinikova O., Abugova Y., Ponomareva N., Belogurova M., et al. Rituximab and reduced-intensity chemotherapy in children and adolescents with mature B-cell lymphoma: interim results for 231 patients enrolled in the second Russian-Belarusian multicentre study B-NHL-2010M. *Br J Haematol* 2019; 186 (3): 477–83.
 32. Osumi T., Mori T., Fujita N., Saito A.M., Nakazawa A., Tsurusawa M., et al. Relapsed/refractory Pediatric B-cell non-Hodgkin Lymphoma Treated With Rituximab Combination Therapy: A Report From the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (10): 1794–9.
 33. Cole P.D., McCarten K.M., Pei Q., Spira M., Metzger M.L., Drachtman R.A., et al. Brentuximab vedotin with gemcitabine for paediatric and young adult patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma (AHOD1221): a Children's Oncology Group, multicentre single-arm, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol* 2018; 19 (9): 1229–38.
 34. Мякова Н.В., Евстратов Д.А., Абрамов Д.С., Коновалов Д.М., Пшонкин А.В., Литвинов Д.В. Применение брентуксимаба ведотина у детей и подростков с лимфомой Ходжкина и анапластической крупноклеточной лимфомой – обзор литературы и собственные наблюдения. *Онкогематология* 2016; 11 (2): 8–14.
 35. Davis K.L., Fox E., Merchant M.S., Reid J.M., Kudgus R.A., Liu X., et al. Nivolumab in children and young adults with relapsed or refractory solid tumours or lymphoma (ADVIL1412): a multicentre, open-label, single-arm, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol* 2020; 21 (4): 541–50.
 36. Козлов А.В., Казанцев И.В., Юхта Т.В., Толкунова П.С., Геворгян А.Г., Лепик К.В. и др. Использование ингибиторов контрольных точек у детей с неходжкинскими лимфомами. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2020; 19 (2): 112–20.
 37. Mosse Y.P., Voss S.D., Lim M.S., Rolland D., Minard C.G., Fox E., et al. Targeting ALK With Crizotinib in Pediatric Anaplastic Large Cell Lymphoma and Inflammatory Myofibroblastic Tumor: A Children's Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2017; 35 (28): 3215–21.
 38. Шелихова Л.Н., Фоминых В.В., Абрамов Д.С., Мякова Н.В., Масчан М.А. и др. Применение кризотиниба при рефрактерных формах ALK-позитивных лимфом. *Терапевтический архив* 2017; 89 (7): 51–6.
 39. Калинин Р.С., Петухов А.В., Кнопpe В.Д., Масчан М.А., Степанов А.В., Габибов А.Г. Молекулярные подходы к безопасной и контролируемой Т-клеточной терапии. *Acta Naturae (русскаяязычная версия)* 2018; 2 (37): 17–25.
 40. Gustavsson A., Osterman B., Cavalin-Stahl E. A systematic overview of radiation therapy effects in non-Hodgkin's lymphoma. *Acta Oncol* 2003; 42: 605–19.
 41. Linsenmeier C., Thoennessen D., Negretti L., Bourquin J.P., Streller T., Lütolf U.M., et al. Total body irradiation (TBI) in pediatric patients. A single-center experience after 30 years of low-dose rate irradiation. *Strahlenther Onkol* 2010; 186 (11): 614–20.
 42. Chen Y.-B., Lane A.A., Logan B.R., Zhu X., Akpek G., Aljurf M.D., et al. Impact of Conditioning Regimen on Outcomes for Patients with Lymphoma Undergoing High-Dose Therapy with Autologous Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (6): 1046–53.
 43. Robinson S.P., Boumendil A., Finel H., Dreger P., Sureda A., Hermine O., et al. High-dose therapy with BEAC conditioning compared to BEAM conditioning prior to autologous stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma: no differences in toxicity or outcome. A matched-control study of the EBMT-Lymphoma Working Party. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53 (12): 1553–9.
 44. Frankiewicz A., Saduś-Wojciechowska M., Najda J., Czerw T., Mendrek W., Sobczyk-Kruszelnicka M., et al. Comparable safety profile of BeEAM (bendamustine, etoposide, cytarabine, melphalan) and BEAM (carmustine, etoposide, cytarabine, melphalan) as conditioning before autologous haematopoietic cell transplantation. *Contemp Oncol (Pozn)* 2018; 22 (2): 113–7.
 45. Laporte J.P., Fouillard L., Douay L., Eugene-Jolchine I., Isnard F., Stachowiak J., et al. GM-CSF instead of autologous bone-marrow transplantation after the BEAM regimen. *Lancet* 1991; 338 (8767): 601–2.

10.24287/1726-1708-2021-20-2-65-73

Особенности фенотипа тромбоцитов у детей с *ANKRD26*-ассоциированной тромбоцитопенией

Д.М. Полохов¹, Д.В. Федорова¹, А.В. Пшонкин¹, А.А. Игнатова¹, Е.А. Пономаренко¹, М.Ю. Алексенко¹, И.В. Мерсиянова¹, Е.А. Серегина¹, К.А. Воронин¹, А.В. Полетаев¹, Е.В. Райкина¹, М.А. Пантелеев¹⁻⁴, П.А. Жарков¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

⁴ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Долгопрудный

Механизмы геморрагических проявлений у пациентов с *ANKRD26*-ассоциированной тромбоцитопенией (*ANKRD26*-АТ) плохо изучены. Цель работы: провести поиск возможных морфофункциональных нарушений тромбоцитов у пациентов с мутациями в гене *ANKRD26* методом проточной цитометрии с активацией. Данное исследование одобрено локальным этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Обследованы 8 детей в возрасте от 1,5 до 15 лет. Количество тромбоцитов варьировало от 29 до 172 тыс/мкл, медиана 60 тыс/мкл. Тяжесть геморрагических проявлений оценивали по стандартизированной шкале Pediatric Bleeding Questionnaire (PBQ) и она варьировала от 0 до 5 баллов, медиана 3,5 балла. Активация тромбоцитов производилась смесью CRP + TRAP. Сравнение проводили с результатами обследования 26 условно здоровых детей (контрольная группа, КГ) в возрасте от 2 до 15 лет. При сравнении с КГ у пациентов отмечалось увеличение размера (FSC; $p = 0,018$) и гранулярности (SSC; $p < 0,001$) тромбоцитов после активации. В отличие от КГ корреляционная связь между FSC и SSC тромбоцитов пациентов была недостоверной (корреляция 0,55; $p = 0,15$). У пациентов наблюдалась высокая достоверная связь между количеством и FSC тромбоцитов (корреляция $-0,93$; $p < 0,001$), а также повышенная плотность CD42b ($p < 0,001$) и снижение доли прокагулянтных тромбоцитов ($p = 0,01$) после активации. Выявленные изменения указывают на нарушения механизмов активации и изменения формы тромбоцитов у пациентов с *ANKRD26*-АТ. **Ключевые слова:** наследственная тромбоцитопения, дети, *ANKRD26*, проточная цитометрия, геморрагический синдром

Полохов Д.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 65–73. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-65-73

Platelet phenotype in children with *ANKRD26*-related thrombocytopenia

D.M. Polokhov¹, D.V. Fedorova¹, A.V. Pshonkin¹, A.A. Ignatova¹, E.A. Ponomarenko¹, M.Yu. Aleksenko¹, I.V. Mersyanova¹, E.A. Seregina¹, K.A. Voronin¹, A.V. Poletaev¹, E.V. Raykina¹, M.A. Panteleev¹⁻⁴, P.A. Zharkov¹

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow

³Lomonosov Moscow State University, Moscow

⁴Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

The mechanisms of hemorrhagic manifestations in patients with *ANKRD26* associated thrombocytopenia (*ANKRD26*-АТ) are poorly understood. The aim of this work is to detect possible morpho-functional disorders of platelets in patients with mutations in the *ANKRD26* gene by flow cytometry with activation. The study was approved by the Independent Ethics Committee of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. 8 children aged from 1.5 to 15 years were examined. The platelet count ranged from 29 to 172 thousand/ μ l, with a median of 60 thousand/ μ l. The severity of hemorrhagic manifestations was assessed on a standardized scale (Pediatric Bleeding Questionnaire, PBQ) and it ranged from 0 to 5 points, with a median of 3.5 points. Platelet activation was performed with a CRP + TRAP mixture. Comparison was carried out with the results of examination of 26 apparently healthy children (control group, CG) aged 2 to 15 years. When compared with CG, patients showed an increase in platelet size (FSC; $p = 0.018$) and granularity (SSC; $p < 0.001$) after activation. In contrast to the CG, the correlation between FSC and SSC of platelets in patients was not significant ($\text{cor.} = 0.55$; $p = 0.15$). Patients showed a high, significant relationship between the number and FSC of platelets ($\text{cor.} = -0.93$; $p < 0.001$), as well as an increased density of CD42b ($p < 0.001$) and a decrease in the proportion of procoagulant platelets ($p = 0.01$) after activation. The revealed changes indicate violations of the mechanisms of activation and shape changes of platelets in patients with *ANKRD26*-АТ.

Key words: hereditary thrombocytopenia, children, *ANKRD26*, flow cytometry, hemorrhagic syndrome

Polokhov D.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 65–73. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-65-73

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 22.12.2020

Принята к печати 02.02.2021

Контактная информация:

Полохов Дмитрий Михайлович, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории клинического гемостаза ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: dmitrii.polokhov@gmail.com

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 22.12.2020

Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Dmitry M. Polokhov, pathologist, laboratory of clinical hemostasis, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: dmitrii.polokhov@gmail.com

Тромбоцитопения, связанная с мутациями в гене *ANKRD26*, характеризуется снижением количества тромбоцитов легкой или средней степени, нормальным размером тромбоцитов и предрасположенностью к развитию миелоидного лейкоза на протяжении жизни. Для данного заболевания не характерно наличие сопутствующей синдромальной патологии, у большинства пациентов геморрагические проявления представлены умеренной кровоточивостью или отсутствием таковой. У некоторых пациентов могут наблюдаться сопутствующие эритроцитоз и лейкоцитоз, дисмегакариоцитопоз, повышенный риск возникновения миелоидных злокачественных новообразований [1]. Патогенетический механизм развития тромбоцитопении заключается в нарушении регуляции экспрессии гена *ANKRD26* во время созревания мегакариоцитов: в норме экспрессия данного гена в зрелых мегакариоцитах снижается, однако при наличии мутаций в 5'-нетранслируемой регуляторной области (5'UTR) этого не происходит, что ведет к стойкой активации сигнального пути *THPO/MPL*, дисмегакариопозу и нарушению образования протромбоцитов [2–4]. Точная распространенность заболевания неизвестна, так как постановка диагноза требует дифференциальной диагностики с другими врожденными тромбоцитопениями и иммунной тромбоцитопенией. Окончательный диагноз может быть поставлен путем секвенирования гена *ANKRD26*, при этом в первую очередь необходимо исследование именно регуляторного региона (5'UTR) [5, 6].

Функциональная активность тромбоцитов у пациентов с *ANKRD26* изучена недостаточно и представлена отдельными наблюдениями серий случаев. Сообщалось о нарушении активации тромбоцитов тромбином [6, 7], ослаблении агрегации тромбоцитов с арахидоновой кислотой и адреналином, пограничном снижении количества плотных гранул. У некоторых пациентов наблюдалось уменьшение количества альфа-гранул и увеличение количества вакуолей и канальцевых сетей, снижение поверхностной экспрессии гликопротеина (ГП) Ib [2, 7, 8].

Исследование оптической агрегометрии затруднено для многих пациентов вследствие тромбоцитопении, но в описанных случаях с умеренной тромбоцитопенией не наблюдалось стойкого нарушения реакции тромбоцитов на любую дозу коллагена, аденозиндифосфата или ристоцетина [2]. Ранее нами убедительно продемонстрированы диагностические возможности использования метода проточной цитофлуориметрии с активацией (тест функциональная активность тромбоцитов, ФАТ) для оценки функции тромбоцитов у детей с геморрагическим синдромом [9, 10], в том числе ассоциированным с тромбоцитопенией [9, 11]. В связи с этим целью настоящего исследования являлся поиск возможных

морфофункциональных нарушений тромбоцитов у пациентов с мутациями в гене *ANKRD26*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами проведено ретроспективное исследование, одобренное независимым этическим комитетом (протокол №8/2016 от 18.10.2016) и утвержденное решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В период с сентября 2017 г. по февраль 2020 г. под наблюдением находились 8 пациентов с тромбоцитопенией, которым на основании молекулярно-генетического обследования был установлен диагноз: тромбоцитопения, связанная с мутацией в гене *ANKRD26*. Проявления геморрагического синдрома были задокументированы в соответствии с требованиями стандартизированной шкалы Pediatric bleeding questionnaire (PBQ) [12]. В качестве контрольной группы (КГ) были использованы образцы крови 26 условно здоровых детей, которые проходили плановое лабораторное обследование в условиях Центра по причинам, не связанным с жалобами на повышенную кровоточивость или другое заболевание крови (обследование в рамках ежегодных диспансеризаций или при необходимости проведения плановых оперативных вмешательств). Письменное информированное согласие было получено от всех официальных представителей пациентов и участников КГ.

Генетические исследования

Молекулярно-генетическое исследование проводили методом высокопроизводительного секвенирования (Next Generation Sequencing, NGS) с помощью таргетной панели «Тромбоцитопении и тромбоцитопатии», включающей 162 гена. Для пробоподготовки ДНК-библиотек использовали методику селективного гибридизационного обогащения с использованием кастомной панели зондов производства Roche (Швейцария) согласно протоколу производителя. Секвенирование проводили на платформе NextSeq Illumina (США) методом парно-концевых прочтений длиной до 120 нуклеотидов. Средняя глубина прочтения в образцах была не менее 100х, покрытие таргетного региона составляло 99% при глубине прочтения не менее 10х. Биоинформатическую обработку осуществляли с применением собственного автоматизированного алгоритма, соответствующего международным стандартам. Для оценки клинической значимости выявленных вариантов использовали следующие базы данных: OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), HGMD (Human Gene Mutation Database), а также соответствующие литературные публикации (PubMed). Клиническую релевантность найденных вариантов определяли с учетом рекомендаций American College of Medical Genetics and Genomics

(ACMG) и российского руководства по интерпретации NGS-данных [13]. Подтверждение генетических вариантов, найденных методом NGS, а также генетическое исследование у сибсов проводили методом прямого секвенирования по Сэнгеру на капиллярном секвенаторе Genetic Analyzer 3500XL (Applied Biosystems).

Функциональная активность тромбоцитов: проточная цитометрия

В цитометрическом исследовании [14] мы проанализировали маркерный состав тромбоцитов в состоянии покоя и после активации смесью TRAP-6 (аналог тромбина, агонист рецептора PAR-1) и CRP (аналог коллагена, агонист ГП VI). Исследование проводили, как описано ранее [9, 11, 15]. Оценивалась морфология тромбоцитов по FSC (размер) и SSC (гранулярность). Изучались следующие рецепторы мембраны тромбоцитов: CD42b (субъединица Ib) рецепторного комплекса ГП Ib-V-XI к фактору Виллебранда, тромбину и связывания с лейкоцитами [16]; CD61 (субъединица IIIa) рецепторного комплекса ГП IIb-IIIa к фибриногену в низкоаффинном состоянии [17]; связывание PAC-1 (выявление ГП IIb-IIIa в высокоаффинном состоянии, способного связывать фибриноген и вызывать агрегацию) [17]; CD62p (P-селектин) как маркер дегрануляции альфа-гранул и молекула межклеточного взаимодействия с лейкоцитами и эндотелиоцитами [18]; объем и высвобождение плотных гранул оценивались по флуоресценции загруженного мепакрина [18]; фосфатидилсерин как маркер количества прокоагулянтных тромбоцитов, модулирующих генерацию тромбина [19].

Анализ крови

Анализ периферической крови выполнялся на гематологическом анализаторе Sysmex XS-1000i

(Sysmex Corporation, Япония). Для оценки результатов использовались референсные диапазоны, являющиеся общепринятыми эталонными диапазонами, взятыми из многих источников, с учетом возраста и пола согласно Pediatric Self-Assessment Program от American college of clinical pharmacy (ACCP).

Статистический анализ

Анализ статистических различий проводился с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни с уровнем значимости $p < 0,05$. Для корреляционного анализа был рассчитан коэффициент корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика пациентов

Обследованы 4 мальчика и 4 девочки. Медиана возраста обращения составила 6 (1,5–15) лет. Количество тромбоцитов варьировало от 29 до 172 тыс/мкл, медиана 60 тыс/мкл. Релевантную пациентам КГ составили 11 мальчиков и 15 девочек (соотношение 1:1,4). Медиана возраста составила 7 (2–15) лет. Количество тромбоцитов варьировало от 160 до 429 тыс/мкл, медиана 265 тыс/мкл.

У пациентов количество лейкоцитов варьировало от 4,09 до 11,69 тыс/мкл, медиана 9,37 тыс/мкл; эритроцитов – от 4,59 до 5,28 млн/мкл, медиана 5,14 млн/мкл; уровень гемоглобина – от 12,1 до 14,7 г/дл, медиана 13,05 г/дл (таблица).

Оценка кровоточивости

Пациенты имели тяжесть геморрагического синдрома от 0 до 5 баллов, медиана 3,5 балла по RBQ. Кровоточивость проявлялась в различных комбинациях экхимозов и петехиальной сыпи, носовых

Таблица
Характеристики пациентов с мутацией ANKRD26

Table
Characteristics of patients with ANKRD26 mutation

№	Пол Sex	Возраст, годы Age, years	5'UTR ANKRD26	Тромбоциты, тыс/мкл PLT, thousand/ μL	PI RI	Лейкоциты, тыс/мкл WBC, thousand/μL	PI RI	Эритроциты, млн/мкл RBC, mln/μL	PI RI	Гемоглобин, г/дл HGB, g/dL	PI RI	PBQ, баллы PBQ, scores
1	Мужской Male	1,5	c.-119C>A	64	150– 450	7,4	6–17	5,22	3,7–5,3	13,6	10,5– 14	2
2	Женский Female	3,5	c.-128G>T	172		11,69		5,11		13,3		1
3	Мужской Male	4	c.-118C>A	66		9,83		4,97		12,1		4
4	Женский Female	5	c.-128G>A	84		4,09		5,28		12,5		0
5	Женский Female	7	c.-118C>A	47		8,91		5,21		14,7		5
6	Мужской Male	8	c.-126T>C	56		10,35		4,59		12,2		3
7	Женский Female	13,5	c.-134G>A	29	4–13,5	6,4	4–13,5	5,17	4,1–5,1	14,3	12– 15	4
8	Мужской Male	15	c.-126T>C	33		10,78		5,02		12,8		5

Примечание. PI – референсные интервалы.
Note. RI – reference intervals.

кровотечений (в том числе обильных, требующих госпитализации), меноррагий, кровотечений после удаления зубов (таблица).

Генетические исследования

Было выявлено 6 патогенных регуляторных мутаций в гене *ANKRD26* (NM_014915.3) в гетерозиготном состоянии (таблица). Пациенты 3 и 5, 6 и 8 являются сибсами и поэтому имеют идентичные мутации.

Проточная цитометрия

Анализ морфологических характеристик тромбоцитов по параметрам светорассеяния FSC и SSC выявил ряд достоверных отличий группы пациентов от КГ.

Если в состоянии покоя FSC и SSC тромбоцитов достоверно не различались между КГ и пациентами ($p = 0,15$ и $p = 0,28$ соответственно) (рисунок 1А, В), то после активации FSC и SSC были достоверно выше в группе пациентов ($p = 0,018$ и $p < 0,001$ соответственно) (рисунок 1Б, Г).

Интегральная оценка морфологических изменений тромбоцитов в ответ на активацию косвенно оценивалась как отношение FSC в покое/после активации и SSC в покое/после активации, оба индекса были достоверно снижены у пациентов ($p = 0,002$ и $p = 0,007$ соответственно) (рисунок 1Д, Е). Полученные результаты указывают на возможные нарушения механизмов активации, изменения формы и SSC тромбоцитов [20].

Изучение корреляционной связи Пирсона между FSC и SSC в покое показало высокую и достоверную корреляцию в КГ (корреляция $0,87$; $p < 0,001$) и заметную, но недостоверную корреляцию в группе пациентов (корреляция $0,55$; $p = 0,15$) (рисунок 2А). Аналогичной была корреляция после активации FSC и SSC в КГ (корреляция $0,9$; $p < 0,001$) и в группе пациентов (корреляция $0,55$; $p = 0,16$) (рисунок 2Б). Полученные результаты указывают на нарушения SSC тромбоцитов пациентов при сохранности их FSC.

Изучение корреляционных связей между количеством и морфологией тромбоцитов показало отсутствие корреляций между количеством и FSC тромбоцитов в КГ в покое (корреляция $-0,13$; $p = 0,54$) и после активации (корреляция $-0,1$; $p = 0,62$) (рисунок 3А, Б); отсутствие корреляций между количеством и SSC тромбоцитов в КГ в покое (корреляция $-0,008$; $p = 0,97$) и после активации (корреляция $-0,008$; $p = 0,97$) (рисунок 3В, Г). В группе пациентов корреляция была весьма высокой между количеством и FSC тромбоцитов в покое (корреляция $-0,93$; $p < 0,001$), после активации корреляция была заметной, но не достоверной (корреляция $-0,69$; $p = 0,06$) (рисунок 3А, Б); корреляция между SSC и количеством тромбоцитов в группе пациентов

была заметной, но не достоверной в покое (корреляция $-0,57$; $p = 0,14$) и после активации (корреляция $-0,69$; $p = 0,06$) (рисунок 3В, Г). Наблюдаемая зависимость ранее описывалась у пациентов с микроциркуляторным геморрагическим синдромом [10].

Плотность CD42b в состоянии покоя достоверно не различалась между КГ и группой пациентов ($p = 0,87$; рисунок 4А), но после активации она была достоверно выше в группе пациентов ($p < 0,001$; рисунок 4Б). Наблюдаемые различия могут указывать на нарушение механизма отщепления (растворения) CD42b с поверхности мембраны тромбоцитов у пациентов.

Количество фосфатидилсерин-положительных (прокоагулянтных) тромбоцитов в состоянии покоя достоверно не различалось между КГ и группой пациентов ($p = 0,82$; рисунок 4В), но после активации оно было достоверно ниже в группе пациентов ($p = 0,01$; рисунок 4Г). Наблюдаемые различия могут указывать на ослабление механизма активации тромбоцитов у пациентов.

Различия между КГ и пациентами в покое и после активации были недостоверны при определении рецепторов CD61, связывания PAC1, CD62p, флуоресценции мепакрина плотных гранул тромбоцитов ($p > 0,05$, данные не показаны).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основная цель данной работы заключалась в выявлении возможных морфологических, фенотипических и функциональных нарушений тромбоцитов у пациентов детского возраста с *ANKRD26*-ассоциированной тромбоцитопенией.

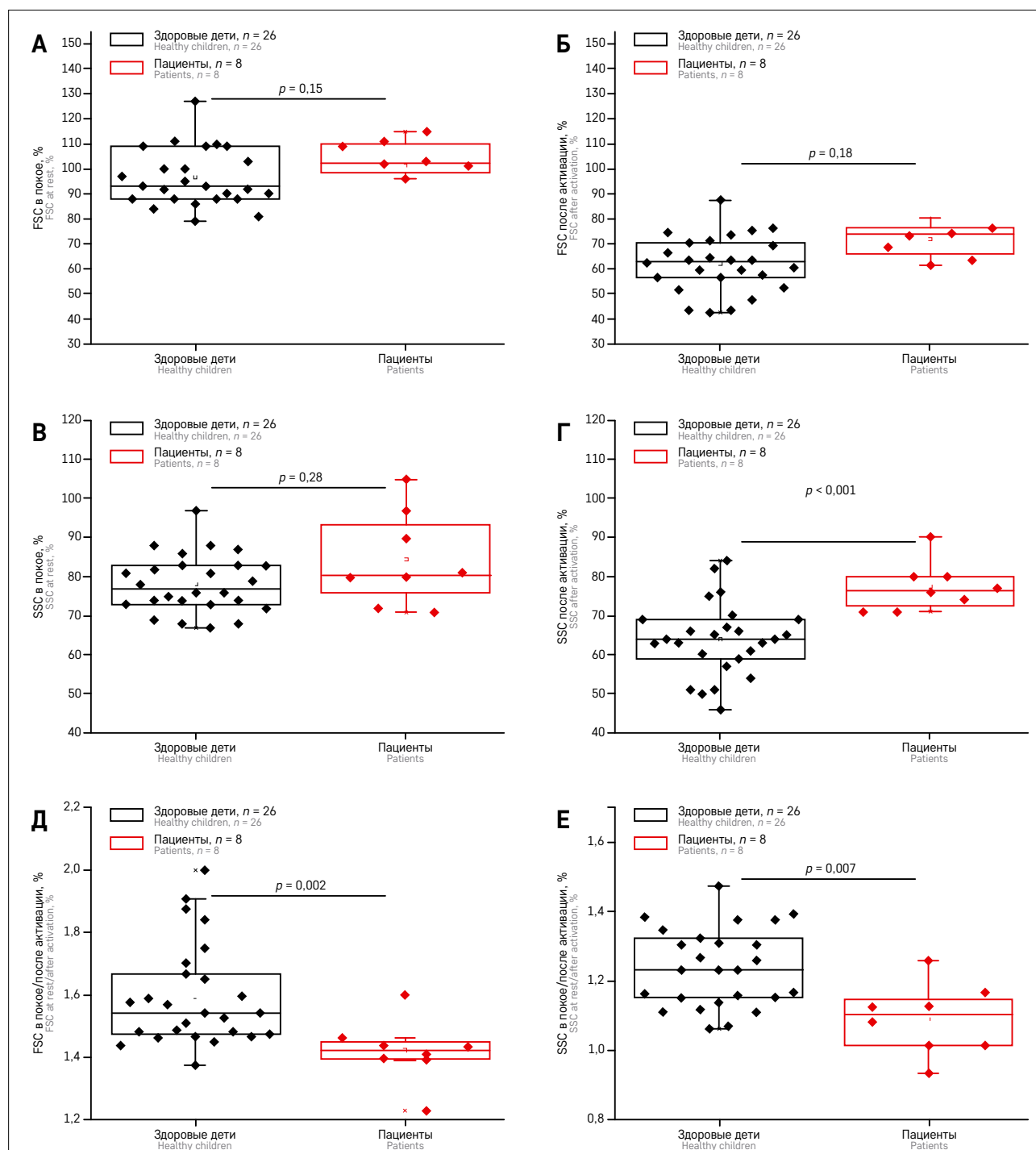
В ходе проведенного анализа нами были обнаружены специфические признаки нарушения активации тромбоцитов, а именно тромбоциты пациентов не показали уменьшения FSC и SSC, характерного для КГ, в сочетании с ослаблением отщепления CD42b и со снижением доли прокоагулянтных тромбоцитов. Похожие нарушения были описаны у пациентов с геморрагическими проявлениями эссенциальной тромбоцитемии (с сопутствующим приобретенным синдромом Виллебранда), предположительно вызванные внутрисосудистой преактивацией и частичной десенсилизацией тромбоцитов [21]. Ранее у пациентов с мутацией *ANKRD26* с.-116C>T J. P. Botero и соавт. описывали пограничное снижение количества плотных гранул, нормальное или сниженное количество альфа-гранул, увеличение количества вакуолей и канальцевых сетей по данным трансмиссионной электронной микроскопии тромбоцитов [8]. У обследованных нами пациентов методом проточной цитометрии мы не выявили достоверных данных за дефицит плотных и альфа-гранул, но пред-

Рисунок 1

Интегральная оценка морфологических характеристик FSC и SSC тромбоцитов в покое и после активации. Панели А и В показывают отсутствие достоверных различий FSC и SSC между КГ и пациентами в покое. Панели Б и Г демонстрируют повышенные значения FSC и SSC в группе пациентов после активации. Панели Д и Е отражают «суммарные» нарушения изменения морфологии тромбоцитов пациентов при реализации активационных процессов перестройки цитоскелета и изменения SSC

Figure 1

Integral assessment of morphological characteristics of platelet size (FSC) and granularity (SSC) at rest and after activation. Panels A and B show no significant differences in FSC and SSC between the CG and patients at rest. Panels Б and Г show increased FSC and SSC values in the patient group after activation. Panels Д and Е reflect the "total" disorders in platelets morphology changes in patients during the implementation of activation processes of the cytoskeleton rearrangement and granularity



полагаем, что наблюдаемое нами повышение SSC может быть обусловлено увеличением количества вакуолей и канальцев, что требует подтверждения методом трансмиссионной электронной микроскопии тромбоцитов.

В литературе описано более 20 мутаций в гене *ANKRD26*, приводящих к тромбоцитопении и 1 функциональный полиморфизм, ассоциированный с усилением агрегационного ответа тромбоцитов на аденозиндифосфат, но молекулярные механизмы и

Рисунок 2

Корреляционные связи между FSC и SSC тромбоцитов в покое и после активации

Панели А и Б демонстрируют высокую и достоверную корреляцию между FSC и SSC у здоровых детей и отсутствие достоверной корреляции у пациентов

Figure 2

Correlation links between FSC and SSC platelets at rest and after activation

Panels A and B show a high and significant correlation between FSC and SSC in healthy children and no significant correlation in patients

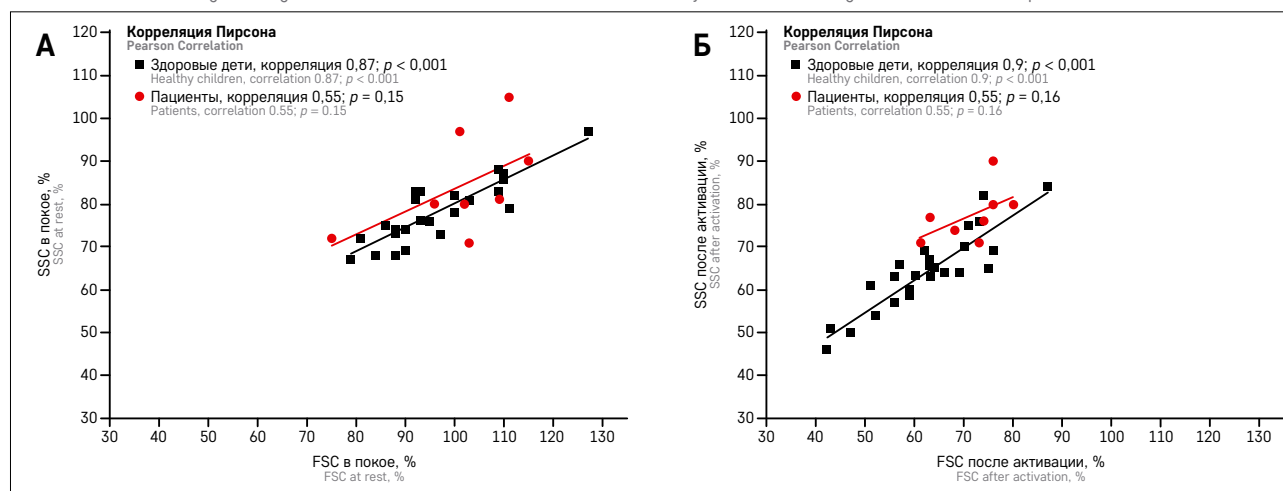


Рисунок 3

Корреляционные связи между FSC, SSC и количеством тромбоцитов в покое и после активации

Панели А и Б, В и Г демонстрируют отсутствие корреляции между FSC, SSC и количеством тромбоцитов у здоровых детей. В группе пациентов наблюдалась высокая и достоверная корреляция между FSC и количеством тромбоцитов в покое (панель А) и заметная, но не достоверная корреляция между FSC и количеством тромбоцитов после активации (панель Б); SSC и количеством тромбоцитов в покое и после активации (панели В и Г)

Figure 3

Correlation between FSC, SSC and platelet count at rest and after activation

Panels A and B, B and Г show no correlation between FSC, SSC and platelet count in healthy children. In the patient group, there was a high and significant correlation between FSC and platelet count at rest (panel A), and a noticeable, but not significant correlation between: FSC and platelet count after activation (panel B); SSC and platelet count at rest and after activation (panels B and Г)

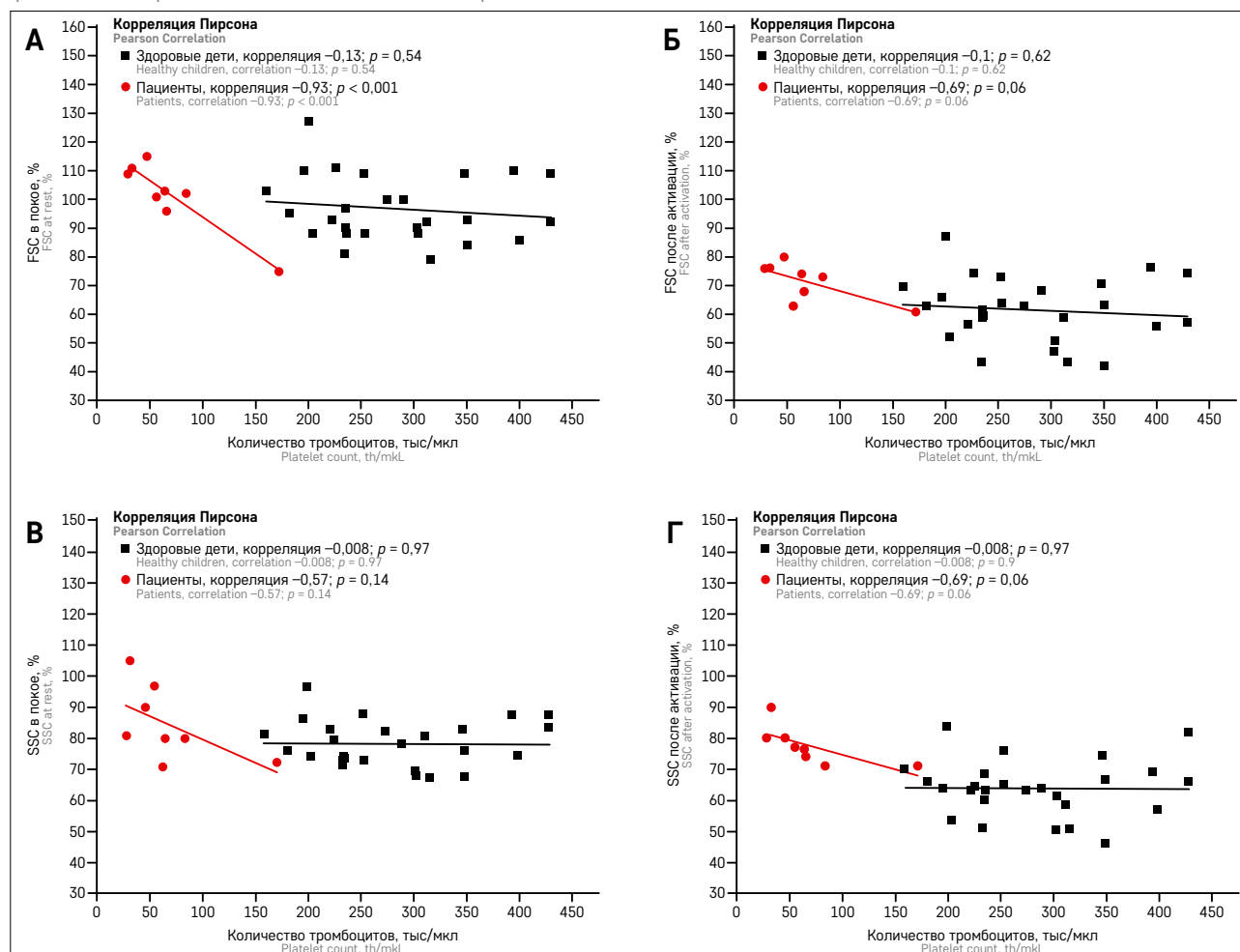


Рисунок 4

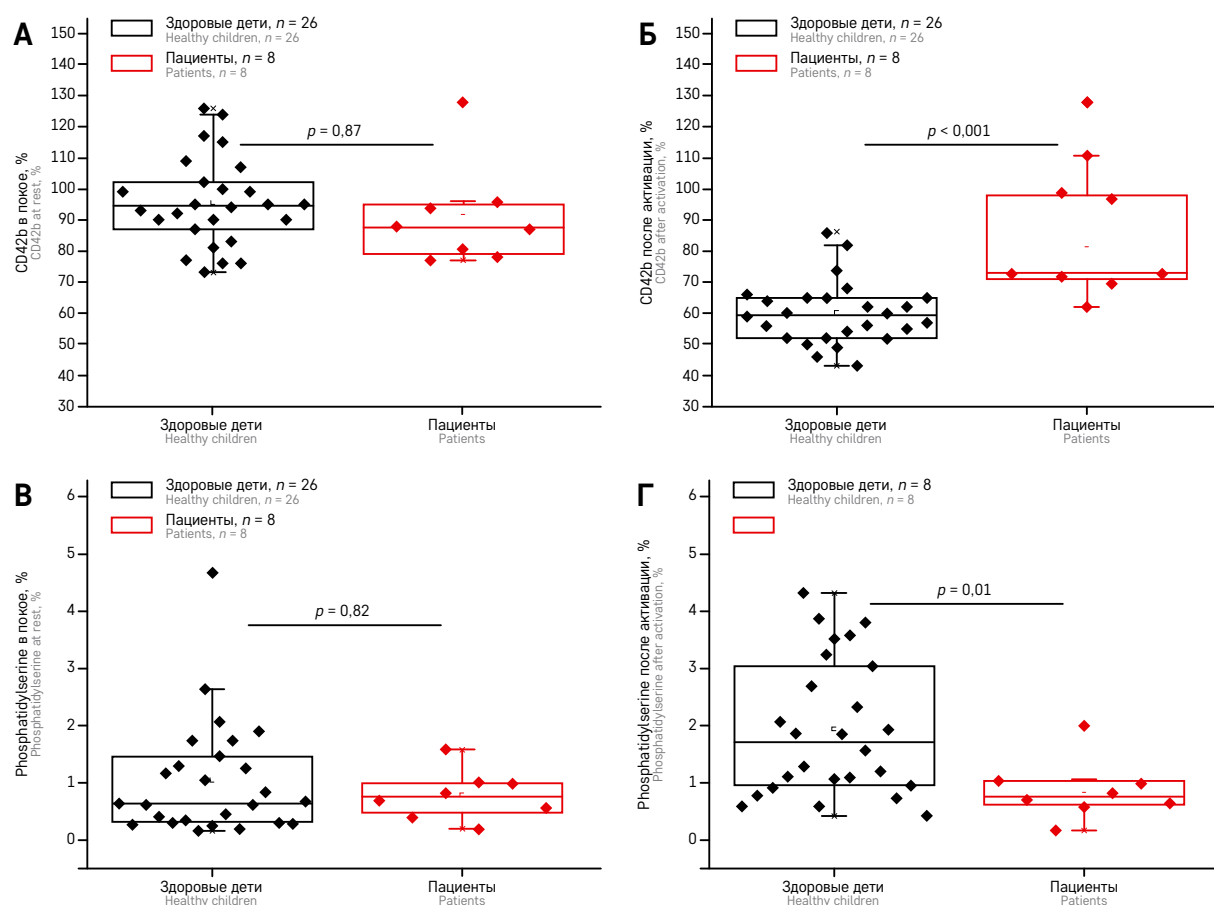
Различия в плотности рецептора CD42b и доли фосфатидилсерин-положительных тромбоцитов

В состоянии покоя нет достоверных различий по CD42b и фосфатидилсерин-положительным тромбоцитам между КГ и пациентами (панели А и В). После активации CD42b был повышен, а доля фосфатидилсерин-положительных тромбоцитов снижена в группе пациентов (панели Б и Г)

Figure 4

Differences in CD42b receptor density and proportion of phosphatidylserine-positive platelets

At rest, there was no significant difference in CD42b and phosphatidylserine-positive platelets between CG and patients (panels A and B). Upon activation, CD42b was increased and the proportion of phosphatidylserine-positive platelets decreased in the patient group (panels Б and Г)



клинические последствия этих результатов требуют дальнейшего изучения [22] и указывают на вероятную ассоциацию между нарушением продукции, структуры и функции тромбоцитов у некоторых пациентов, наблюдавшихся в тестах агрегометрии и проточной цитометрии [2, 6–8].

Известно, что FSC тромбоцитов может увеличиваться с тяжестью тромбоцитопении [9, 10], в том числе вследствие изменений характера тромбоцитопоза [3]. Среди наблюдавшихся пациентов FSC тромбоцитов увеличивался не выражено, но достоверно по мере уменьшения их количества и эти наблюдения требуют дополнительного изучения на больших когортах пациентов с мутацией *ANKRD26*.

Цитоплазматический участок CD42b связан с белком цитоскелета филамином, а через него с актиновыми волокнами цитоскелета и мембранным цитоскелетом. В норме при активации тромбоцитов происходит деполимеризация волокон цитоскелета, а под действием внутриклеточных протеаз – отщепление растворимой внеклеточной части CD42b (гликокаликсина) [16]. Мы предполагаем, что одной из возможных причин повышенного уровня CD42b у пациентов после активации может быть нарушение реорганизации цитоскелета тромбоцитов [20], также проявляющееся в нарушении изменения FSC и SSC.

Способность прокоагулянтных тромбоцитов регулировать образование тромбина привлекает все больше внимания исследователей из разных областей медицины [23]. Ранее M. Daskalakis и соавт. сообщали, что среди 67 пациентов с тяжелым геморрагическим синдромом в 24% случаев наблюдалось снижение образования прокоагулянтных тромбоцитов < 20% по сравнению с КГ [24]. C.I. Prodan и соавт. сообщили о потенциальном клиническом значении снижения доли COAT-тромбоцитов (подгруппа прокоагулянтных тромбоцитов) в развитии спонтанных внутримозговых кровоизлияний у взрослых пациентов [25, 26]. И напротив, повышение количества COAT-тромбоцитов коррелировало с преходящей

клинические последствия этих результатов требуют дальнейшего изучения [22] и указывают на вероятную ассоциацию между нарушением продукции, структуры и функции тромбоцитов у некоторых пациентов, наблюдавшихся в тестах агрегометрии и проточной цитометрии [2, 6–8].

ишемической атакой и ишемическими инсультами [27–29]. Таким образом, не исключен возможный вклад низкого количества прокоагулянтных тромбоцитов в развитие геморрагических проявлений у обследованных пациентов с мутацией *ANKRD26*.

Мы склонны считать, что тяжесть геморрагических проявлений у наблюдавшихся нами пациентов не соответствует выраженности тромбоцитопении и выявленные отклонения могут вносить вклад в развитие геморрагических симптомов. У половины наблюдавшихся пациентов тяжесть геморрагического синдрома оценена в 4–5 баллов по PBQ, но нам не удалось выявить ярких отличий фенотипа тромбоцитов от пациентов с минимальными проявлениями в 0–3 балла. Однако пациенты 2 и 4 (таблица) с мутациями с.-128G>T и с.-128G>A соответственно имели наибольшее количество тромбоцитов и не имели жалоб на геморрагические проявления, что может указывать на неоднозначность влияния мутаций в гене *ANKRD26* на клинический фенотип, и это должно быть принято во внимание лечащими врачами, в том числе и при решении вопроса о заместительной терапии.

Литературные данные о количестве лейкоцитов, эритроцитов и уровне гемоглобина противоречивы. Сообщалось, что у большинства пациентов они оставались в пределах нормы, но у части больных отмечалось независимое повышение или снижение данных показателей относительно референсного диапазона. Лейкоцитоз объяснялся воспалительными процес-

сами, снижение гемоглобина и эритроцитоз – геморрагическими проявлениями. Повышение гемоглобина у некоторых пациентов осталось не объясненным [2]. В гемограмме наших пациентов невыраженное повышение количества эритроцитов и гемоглобина наблюдались независимо лишь у 2 пациентов, а все остальные показатели оставались в пределах возрастных норм (таблица).

Выявленные нами паттерны функциональных нарушений заслуживают дальнейшего изучения их молекулярных механизмов для выработки подхода к прогнозированию геморрагических рисков путем выявления клиничко-лабораторных корреляций.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Polokhov D.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6905-2878>
Fedorova D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4567-1871>
Pshonkin A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2057-2036>
Ignatova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5217-3937>
Ponomarenko E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8697-7570>
Aleksenko M.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2521-5353>
Mersiyanova I.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0471-2956>
Seregina E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7534-3863>
Poletaev A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5209-2099>
Raykina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>
Panteleev M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8128-7757>
Zharkov P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

Литература

- Botero J.P., Stefanie N.D., Matthew W.A. *ANKRD26*-Related Thrombocytopenia 2018 Jun 21. GeneReviews 2019; 1–11.
- Noris P., Perrotta S., Seri M., Pecci A., Gnan C., Loffredo G., et al. Mutations in *ANKRD26* are responsible for a frequent form of inherited thrombocytopenia: Analysis of 78 patients from 21 families. *Blood* 2011; 117 (24): 6673–80.
- Balduini C.L., Melazzini F., Pecci A. Inherited thrombocytopenias – recent advances in clinical and molecular aspects. *Platelets* 2017; 28: 3–13.
- Bluteau D., Balduini A., Balayn N., Currao M., Nurden P., Deswarte C., et al. Thrombocytopenia-associated mutations in the *ANKRD26* regulatory region induce MAPK hyperactivation. *J Clin Invest* 2014; 124: 580–91.
- Balduini C., Pecci A., Noris P. Diagnosis and management of inherited thrombocytopenias. *Semin Thromb Hemost* 2013; 39: 161–71.
- Boutroux H., Petit A., Auvrignon A., Lapillonne H., Ballerini P., Favier R., Leverger G. Childhood diagnosis of genetic thrombocytopenia with mutation in the ankyrin repeat domain 26 gene. *Eur J Pediatr* 2015; 174: 1399–403.
- Rabbolini D., Connor D., Morel-Kopp M.C., Donikian D., Kondo M., Chen W., et al. An integrated approach to inherited platelet disorders: results from a research collaborative, the Sydney Platelet Group. *Pathology* 2020; 52: 243–55.
- Botero J.P., Chen D., He R., Viswanatha D.S., Majerus J.A., Coon L.M., et al. Clinical and laboratory characteristics in congenital *ANKRD26* mutation-associated thrombocytopenia: A detailed phenotypic study of a family. *Platelets* 2016; 27: 712–5.
- Ignatova A.A., Ponomarenko E.A., Polokhov D.M., Suntsova E.V., Zharkov P.A., Fedorova D.V., et al. Flow cytometry for pediatric platelets. *Platelets* 2019, 30 (4): 428–37.
- Полохов Д.М., Пшонкин А.В., Игнатова А.А., Пономаренко Е.А., Федорова Д.В., Алексенко М.Ю. и др. Особенности пула хранения и морфологии тромбоцитов у детей с неуточненным геморрагическим синдромом. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2021; 20 (1): 58–67.
- Suntsova E.V., Demina I.M., Ignatova A.A., Ershov N.M., Trubina N.M., Dobrynina J., et al. Bleeding tendency and platelet function during treatment with romiplostim in children with severe immune

- thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2017; 105: 841–8.
12. Mittal N., Naridze R., James P., Shott S., Valentino L.A. Utility of a Paediatric Bleeding Questionnaire as a screening tool for von Willebrand disease in apparently healthy children. *Haemophilia* 2015; 21: 806–11.
 13. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., Коновалов Ф.А., Масленников А.Б., Степанов В.А. и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). *Медицинская генетика* 2019; 8: 3–23.
 14. Carubbi C., Masselli E., Vitale M. Flow Cytometry. In: Gresele P., Kleiman N.S., Lopez J.A., Page C.P. (eds.). *Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders. Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update*. Springer International Publishing, Cham; 2017. Pp. 589–617.
 15. Ignatova A.A., Karpova O.V., Trakhtman P.E., Rumiantsev S.A., Panteleev M.A. Functional characteristics and clinical effectiveness of platelet concentrates treated with riboflavin and ultraviolet light in plasma and in platelet additive solution. *Vox Sang* 2016; 110: 244–52.
 16. López J.A. The Platelet Glycoprotein Ib-IX-V Complex. In: Gresele P., Kleiman N.S., Lopez J.A., Page C.P. (eds.). *Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders. Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update*. Springer International Publishing, Cham; 2017. Pp. 85–97.
 17. Bennett J.S. GPIIb/IIIa Structure and Function. In: Gresele P., Kleiman N.S., Lopez J.A., Page C.P. (eds.). *Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders. Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update*. Springer International Publishing, Cham; 2017. Pp. 99–112.
 18. Flaumenhaft R. Platelet Secretion. In: Gresele P., Kleiman N.S., Lopez J.A., Page C.P. (eds.). *Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders. Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update*. Springer International Publishing, Cham; 2017. Pp. 353–366.
 19. Heemskerk J.W.M., Cosemans J.M.E.M., van der Meijden P.E.J. Platelets and Coagulation. In: Gresele P., Kleiman N.S., Lopez J.A., Page C.P. (eds.). *Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders. Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update*. Springer International Publishing, Cham; 2017. Pp. 447–462.
 20. Aslan J.E. Platelet Shape Change. In: Gresele P., Kleiman N.S., Lopez J.A., Page C.P. (eds.). *Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders. Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update*. Springer International Publishing, Cham; 2017. Pp. 321–336.
 21. Polokhov D.M., Ershov N.M., Ignatova A.A., Ponomarenko E.A., Gaskova M.A., Zharkov P.A., et al. Platelet function and blood coagulation system status in childhood essential thrombocythemia. *Platelets* 2019; 31 (8): 1001–11.
 22. Chen M.H., Yanek L.R., Backman J.D., Eicher J.D., Huffman J.E., Ben-Shlomo Y., et al. Exome-chip meta-analysis identifies association between variation in *ANKRD26* and platelet aggregation. *Platelets* 2019; 30: 164–73.
 23. Mazepa M., Hoffman M., Monroe D. Superactivated platelets: Thrombus regulators, thrombin generators, and potential clinical targets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33: 1747–52.
 24. Daskalakis M., Colucci G., Keller P., Rochat S., Silzle T., Biasiutti F.D., et al. Decreased generation of procoagulant platelets detected by flow cytometric analysis in patients with bleeding diathesis. *Cytom Part B Clin Cytom* 2014; 86: 397–409.
 25. Prodan C.I., Vincent A.S., Padmanabhan R., Dale G.L. Coated-platelet levels are low in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2009; 40: 2578–80.
 26. Prodan C.I., Vincent A.S., Dale G.L. Coated platelet levels correlate with bleed volume in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2010; 41: 1301–3.
 27. Prodan C.I., Vincent A.S., Dale G.L. Coated-platelet levels are elevated in patients with transient ischemic attack. *Transl Res* 2011; 158: 71–5.
 28. Prodan C.I., Joseph P.M., Vincent A.S., Dale G.L. Coated-platelets in ischemic stroke: Differences between lacunar and cortical stroke. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 609–14.
 29. Prodan C.I., Stoner J.A., Cowan L.D., Dale G.L. Lower coated-platelet levels are associated with early hemorrhagic transformation in patients with non-lacunar brain infarction. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 1185–90.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 02.02.2021
Принята к печати 26.02.2021

10.24287/1726-1708-2021-20-2-74-83

Синдром Фишера–Эванса у детей: результаты ретроспективного исследования данных 54 пациентов

Ж.А. Кузьмина, А.В. Пшонкин, Е.В. Райкина, А.В. Павлова, М.А. Курникова, И.В. Мерсиянова, Е.В. Сунцова, О.А. Швеца, А.А. Мухина, Н.Б. Кузьменко, А.Ю. Щербина, А.А. Масчан, Н.С. Сметанина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Кузьмина Жанна Андреевна, научный сотрудник отдела оптимизации лечения гематологических заболеваний ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: zfolkina@yandex.ru

Синдром Фишера–Эванса (СФЭ) – это редкое заболевание, при котором сочетаются аутоиммунная гемолитическая анемия и иммунная тромбоцитопения. СФЭ у детей часто связан с дефектом регуляции иммунной системы. В статье представлены результаты анализа данных обследования 54 детей, обращавшихся в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в период с 2012 по 2019 г. Исследование одобрено локальным этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Распределение пациентов по полу мужской:женский составило 1,07:1, медиана возраста развития первичной цитопении – 4 года (0 месяцев – 16 лет). В 3 случаях после проведенного обследования был установлен другой диагноз – врожденная тромбоцитическая тромбоцитопеническая пурпура. Таким образом, в дальнейший анализ был включен 51 пациент. Вторичный СФЭ имели 39 (76,5%) детей, медиана возраста развития цитопении – 4 года (2 месяца – 12 лет), распределение по полу мужской:женский – 1,05:1. Генетическое подтверждение первичного иммунодефицитного состояния (ПИДС) получено у 25 из 39 детей, у оставшихся диагноз ПИДС базируется на клинико-лабораторных данных. Идиопатический (первичный) СФЭ выявлен у 12 (22,2%) пациентов, медиана возраста развития цитопении – 8 лет (7 месяцев – 16 лет) и распределение по полу – 1:1. При СФЭ первоначально чаще наблюдалось развитие изолированной цитопении: идиопатическая тромбоцитопения – 22 (43,1%) пациента, аутоиммунная гемолитическая анемия – 15 (29,4%), иммунная нейтропения – 1 (2%), одновременное развитие аутоиммунной гемолитической анемии и идиопатической тромбоцитопении зафиксировано у 8 (15,7%) детей, трехростковая цитопения – у 5 (9,8%). Вторая цитопения развивалась в среднем через 2 года (1 мес – 9 лет). Нейтропения наблюдалась только при вторичном СФЭ. Летальность при СФЭ составила 9,8%. Терапия первой линии (внутривенные иммуноглобулины, глюкокортикостероиды) при СФЭ показала невысокую эффективность, стойкая ремиссия была достигнута у 5,9% пациентов. Назначения других линий терапии потребовали 34 (87%) пациента с вторичным СФЭ и 9 (75%) – с идиопатическим СФЭ. Препараты последующих линий, показавшие хорошую эффективность: ритуксимаб (76,5%), микофенолата мофетил (94%), сиролимус (83%). Комбинации препаратов ритуксимаб и микофенолата мофетил, ритуксимаб и сиролимус также имели хорошую эффективность с сохранением стойкой ремиссии у 83,3% и 75% пациентов соответственно. Пациентам детского возраста с СФЭ необходимо проведение тщательного обследования, включая генетический поиск, в целях своевременной диагностики ПИДС и исключения врожденной тромбоцитической тромбоцитопенической пурпуры. Комбинация ритуксимаба и микофенолата мофетила показала наибольшую эффективность в терапии СФЭ.
Ключевые слова: синдром Фишера–Эванса, аутоиммунная гемолитическая анемия, иммунная тромбоцитопения, первичный иммунодефицит, диагностика, лечение

Кузьмина Ж.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 74–83. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-74-83

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 02.02.2021
Accepted 26.02.2021

Evans syndrome in children: the results of a retrospective study of 54 patients

Z.A. Kuzminova, A.V. Pshonkin, E.V. Raikina, A.V. Pavlova, M.A. Kurnikova, I.V. Mersyanova, E.V. Suntsova, O.A. Shvets, A.A. Mukhina, N.B. Kuzmenko, A.Yu. Shcherbina, A.A. Maschan, N.S. Smetanina

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Zhanna A. Kuzminova, a researcher at the Department of Treatment Optimization for Hematologic Diseases, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: zfolkina@yandex.ru

Evans syndrome (ES) is a rare disorder accompanied by autoimmune hemolytic anemia and immune thrombocytopenia. ES in children is often associated with the defect of immune system regulation. This article presents an analysis of the results of investigation of 54 children with ES admitted to the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology during the period 2012–2019. The male-to-female ratio was 1.07:1 and the median age of the disease onset was 4 years (0 months – 16 years). Based on the results of molecular genetic testing, the diagnosis was changed in three patients to congenital TTP. Thus, for further analysis 51 patients were available. Thirty-nine out of 51 children (76.5%) had secondary ES, the median age of the disease onset was 4 years (2 months – 12 years), the male-to-female ratio was 1.05:1. PID was genetically confirmed in 25 out of 39 patients, in the remaining 14 cases the diagnosis of PID was based on clinical and laboratory findings only. Twelve patients (22.2%) had idiopathic (primary) ES, the median age of the disease onset was 8 years (7 months – 16 years) and the male-to-female ratio was 1:1. The disease onset in ES was more often accompanied by isolated cytopenia: ITP – 22 (43.1%) patients, AIHA – 15 (29.4%) patients, immune neutropenia – 1 (2%) patient, simultaneously with AIHA and ITP – 8 (15.7%) patients, pancytopenia – 5 (9.8%) patients. The second cytopenia developed on average after 2 years (1 month – 9 years). Neutropenia was observed only in secondary ES. The mortality rate for ES was 9.8%. First-line therapy (IVIg,

glucocorticoids) for ES showed low effectiveness and sustained remission was observed only in 5.9% of patients. Thirty-four (87%) patients with secondary ES and 9 (75%) patients with idiopathic ES required other lines of therapy. The next-line drugs that showed good effectiveness were rituximab (76.5%), MMF (94%), and sirolimus (83%). Combinations of rituximab and MMF, rituximab and sirolimus were also effective and induced sustained remission without other therapy in 83.3% and 75% of patients respectively. Children with ES need thorough examination, including genetic testing, for the early diagnosis of PID and the exclusion of congenital TTP. The combination of rituximab and MMF proved to be the most effective treatment for ES.

Key words: *Evans syndrome, autoimmune hemolytic anemia, immune thrombocytopenia, primary immunodeficiency, diagnosis, treatment*

Kuzminova Z.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 74–83.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-74-83

Классическое определение синдрома Фишера–Эванса (СФЭ) – это сочетание аутоиммунной гемолитической анемии (АИГА) и иммунной тромбоцитопении (ИТП), которые могут развиваться одновременно или последовательно, иногда сочетаются с иммунной нейтропенией [1]. С момента первого описания СФЭ долгое время рассматривался как идиопатическое состояние [2].

СФЭ является редким заболеванием, частота встречаемости у взрослых и детей точно неизвестна. Данные литературы свидетельствуют о том, что СФЭ диагностируется в 0,8–3,7% случаев среди пациентов, которые дебютировали с изолированной ИТП или АИГА [2].

СФЭ принято классифицировать на первичный (идиопатический), являющийся диагнозом исключения, и вторичный, который развивается на фоне других заболеваний (инфекции, лимфопролиферативные заболевания, аутоиммунные заболевания, иммунодефицитные состояния, злокачественные заболевания) [3].

Современные достижения в понимании патофизиологии данного синдрома выявили частую связь с нарушениями иммунной регуляции. Тем не менее диагноз идиопатического СФЭ все еще предшествует диагностике основного заболевания в большинстве случаев [4]. Наиболее часто выявляемыми заболеваниями, приводящими к развитию СФЭ, являются аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (АЛПС), общая переменная иммунная недостаточность (ОВИН) и системные аутоиммунные заболевания, среди которых чаще всего встречается системная красная волчанка (СКВ) [5].

Течение заболевания, как правило, хроническое, более тяжелое и рефрактерное к лечению, чем при изолированных аутоиммунных цитопениях, вероятно, из-за лежащей в основе иммунной дисрегуляции [5].

В связи с увеличением диагностических возможностей, особенно генетической диагностики, перечень заболеваний, имеющих в проявлениях СФЭ, продолжает расширяться. Помимо ранее известных синдромов, при которых может развиваться СФЭ, недавно были также описаны синдром МоноМас (GATA2 дефицит), дефицит CD27, LRBA-синдром, синдром активированной PI3KD, X-сцепленный имму-

нодефицит с дефектом транспорта магния (дефицит MAGT1) и др. [6]. Однако, несмотря на успехи в диагностике, около 50% пациентов с СФЭ все еще остаются с диагнозом «идиопатический СФЭ».

В настоящий момент для пациентов с СФЭ, как взрослых, так и детей, не существует единых подходов к терапии. Тактика ведения пациентов с СФЭ сводится к подходам, используемым при изолированных ИТП и/или АИГА [2].

В нашем исследовании проведен анализ клинических и лабораторных проявлений у пациентов детского возраста с диагнозом СФЭ с включением молекулярно-генетического обследования в целях поиска основного заболевания. Также мы оценили эффективность проведенной терапии СФЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное ретроспективное исследование было одобрено решением ученого совета и поддержано локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Критерии включения

В исследование были включены пациенты младше 18 лет, обращавшиеся в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России в период с 2012 по 2019 г.

Критерием включения в исследование был клинический диагноз СФЭ (наличие гемолитической анемии или признаков гемолиза в отсутствие анемии и тромбоцитопении одновременно или последовательно в анамнезе, отсутствие у пациента на момент дебюта СФЭ других заболеваний, объясняющих цитопению; иммунный характер цитопении подтверждался положительной прямой пробой Кумбса или ответом на терапию глюкокортикостероидами (ГКС) и/или внутривенными иммуноглобулинами (ВИГ)).

Пациенты

В исследование включены 54 пациента, которые имели достаточный объем информации для анализа. Распределение по полу мужской:женский среди паци-

ентов составило 1,07:1 (28 мальчиков и 26 девочек). Медиана возраста развития первичной цитопении составила 4 года (от 0 месяцев до 16 лет).

Обследование

Проведен ретроспективный анализ результатов обследования по данным медицинской документации (выписки), стандартного иммунологического обследования (определение сывороточных иммуноглобулинов, иммунофенотипирование лимфоцитов), а также молекулярно-генетического исследования.

Молекулярно-генетическое исследование в основном проводилось методом высокопроизводительного секвенирования ДНК (NGS) с использованием таргетных панелей генов: «Иммунологическая», «Гемолитические анемии» и «Тромбоцитопении и тромбоцитопатии». Анализ ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови, проводился на платформе NextSeq (Illumina, США) методом парно-концевого чтения со средней глубиной прочтения не менее 100x и покрытием целевого региона 99% при глубине прочтения не менее 10x. При выявлении мутации вероятно патогенной или неясного клинического значения проводилось дополнительное функциональное исследование.

Некоторым пациентам по показаниям дополнительно проводилось цитогенетическое обследование с использованием метода FISH, хромосомного микроматричного анализа (ХМА).

Стоит отметить, что отсутствие выявленного генетического дефекта по данным нашего обследования не являлось основанием для исключения первичного иммунодефицитного состояния (ПИДС). Учитывались также семейный анамнез, клиническая картина (например, выраженность лимфопролиферативного синдрома, фенотипические особенности пациента), сопутствующее поражение других органов и систем, инфекционный анамнез, данные иммунологического обследования.

Критерии оценки эффективности терапии

Полным ответом (ПО) мы считали восстановление нормальной гемограммы (повышение гемоглобина до 110 г/л и более, числа тромбоцитов до $150 \times 10^9/\text{л}$ и более) и отсутствие лабораторных признаков гемолиза (отсутствие ретикулоцитоза, высокой активности лактатдегидрогеназы, гипербилирубинемии).

За частичный ответ (ЧО) принимали повышение числа тромбоцитов до $30 \times 10^9/\text{л}$ и более, гемоглобина до 100 г/л и более при сохранении признаков гемолиза.

Отсутствием ответа считалось сохранение анемии (гемоглобин менее 100 г/л) и тромбоцитопении (менее $30 \times 10^9/\text{л}$) с признаками активного гемолиза.

Результаты прямой пробы Кумбса не учитывались при оценке ответа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика пациентов

У 3 пациентов нами был диагностирован врожденный дефицит фермента ADAMTS13 (врожденная тромбоцитическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП)), что составило 5,6% от всех анализируемых пациентов. Фермент ADAMTS13 кодируется геном ADAMTS13, специфически расщепляет фактор фон Виллебранда (vWF). Биаллельные (гомозиготные и компаунд-гетерозиготные) патогенные варианты в гене ADAMTS13 приводят к развитию врожденной ТТП с аутосомно-рецессивным типом наследования.

Все пациенты с врожденной ТТП дебютировали в возрасте до 1 года (от 0 (с рождения) до 10 месяцев), средний возраст составил 5,5 месяца, 2 мальчика и 1 девочка. Эти пациенты имели клинический диагноз СФЭ и удовлетворяли критериям включения в наше исследование (одновременное развитие гемолитической анемии и тромбоцитопении, характер заболевания рассматривался как иммунный, так как пациенты имели ПО или ЧО на терапию ГКС и/или ВВИГ). При этом у всех 3 пациентов прямая проба Кумбса была отрицательной. Двум пациентам с врожденной ТТП после уточнения диагноза удалось вовремя скорректировать терапию (регулярные заместительные трансфузии свежезамороженной плазмы) и 1 пациент, к сожалению, умер от осложнений терапии с ложным диагнозом.

В итоге для дальнейшего анализа был доступен 51 пациент. Характеристика пациентов, включенных в дальнейший анализ, представлена в *таблице 1*.

По результатам проведенного анализа анамнеза, клинической картины, результатов стандартного иммунологического исследования было диагностировано основное заболевание (ПИДС) у 39 (76,5%) пациентов из 51, которые в нашем исследовании были отнесены к вторичному СФЭ, т. е. на фоне ПИДС, в том числе с иммунной дисрегуляцией.

В этой группе пациентов генетическое подтверждение ПИДС было получено у 25 детей (64% от всех пациентов с диагностированным ПИДС). У оставшихся 14 (36%) больных в настоящий момент генной поломки, объясняющей ПИДС, не выявлено. Диагностированные ПИДС представлены в *таблице 2*.

Диагноз идиопатический (первичный) СФЭ после обследования остался у 12 (22,2%) пациентов. Распределение по полу – 1:1.

Раннее развитие (до 3 лет) инициальной цитопении у пациентов с СФЭ наблюдалось у 19 (37%) пациентов, среди них с идиопатическим СФЭ было 3 ребенка (25% от всех пациентов с идиопатиче-

Таблица 1
Клиническая характеристика пациентов с СФЭ

Table 1
Clinical features of patients with ES

Показатель Parameter	Идиопатический СФЭ Idiopathic ES	Вторичный СФЭ Secondary ES
Число пациентов Number of patients	12	39
Возраст дебюта цитопении, медиана (min–max) Age of cytopenia onset, median (min–max)	8 лет (7 месяцев – 16 лет) 8 years (7 months – 16 years)	4 года (2 месяцев – 12 лет) 4 years (2 months – 12 years)
ИТП инициально ITP at onset	7	15
АИГА инициально AIHA at onset	4	11
Нейтропения инициально Neutropenia at onset	–	1
Инициально АИГА и ИТП Onset simultaneously with AIHA and ITP	1	7
Начало с 3-ростковой цитопении Onset with pancytopenia	–	5
Скорость присоединения второй цитопении, медиана (min–max) Secondary cytopenia accession rate, median (min–max)	2 года (3 мес – 4,5 года) 2 years (3 months – 4.5 years)	1 год (1 мес – 9 лет) 1 years (1 months – 9 years)
Летальность, число пациентов, n (%) Mortality, number of patients	2 (16,7)	3 (7,7)
Наступление летального исхода с момента первичной цитопении, медиана (min–max) Median time to death since cytopenia onset (min–max)	1 год 6 мес (3 мес – 3 года) 1 years 6 months (3 months – 3 years)	10 мес (4 мес – 11,5 года) 10 months (4 months – 11.5 years)

ским СФЭ), со вторичным СФЭ – 16 (41% от пациентов со вторичным СФЭ). Развитие цитопении после 3 лет отмечалось у 32 (63%) больных, среди них с идиопатическим СФЭ – 9 (75%), с вторичным СФЭ – 23 (59%).

Чаще всего при СФЭ изначально развивалась изолированная цитопения. ИТП в качестве первой цитопении была у 22 (43,1%) пациентов, АИГА – у 15 (29,4%), одновременное развитие АИГА и ИТП встречалось у 8 (15,7%) больных.

Медиана развития цитопении у пациентов с идиопатическим СФЭ составила 8 лет (минимальный возраст 7 месяцев, максимальный – 16 лет). Стоит отметить, что пациенты со вторичным СФЭ развивали цитопению в более раннем возрасте (медиана 4 года (минимальный возраст 2 месяца, максимальный – 12 лет)), чем с идиопатическим СФЭ ($p < 0,05$).

Нейтропения встречалась только у пациентов с вторичным СФЭ ($n = 12$; 30,8% случаев всех вторичных СФЭ). У 1 ребенка заболевание дебютировало с иммунной нейтропенией с последующим присоединением АИГА и ИТП. Развитие трехростковой цитопении отмечалось у 5 (9,8%) пациентов с вторичным СФЭ.

Медиана времени до присоединения второй цитопении при идиопатическом и при вторичном СФЭ составила 18,5 мес (минимально 1 мес, максимально 9 лет) от первых клинических проявлений.

Летальность среди пациентов с СФЭ составила 9,8% ($n = 5$). Медиана возраста наступления летального исхода – 13 (от 2 до 15) лет. Медиана наступления летального исхода от момента развития первичной цитопении среди всех пациентов составила 10 месяцев (от 3 месяцев до 11,5 года).

У 3 пациентов причина смерти была связана с СФЭ, оставшиеся умерли от осложнений, связанных с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК).

Прямая проба Кумбса

Положительная прямая проба Кумбса отмечена у 49 (96%) из 51 пациента. У 20 из 49 пациентов с положительной прямой пробой Кумбса удалось провести расширенный анализ с дифференциацией классов иммуноглобулинов и компонентов компонента (таблица 3). В подавляющем большинстве случаев положительная прямая проба Кумбса была обусловлена антителами класса IgG (70% случаев), в редких случаях – сочетание IgG + C3d, IgG + IgA или C3d (15%, 10% и 5% случаев соответственно).

Отрицательную прямую пробу Кумбса имели 2 пациента: 1 больной с вторичным СФЭ (синдром Вискотта–Олдрича; 2,6% пациентов с вторичным СФЭ) и 1 – с идиопатическим СФЭ (8,3% всех пациентов с идиопатическим СФЭ).

Лечение

Все пациенты с СФЭ в нашем исследовании в качестве терапии первой линии получали ГКС и/или ВВИГ.

Монотерапию ГКС в дозе 2 мг/кг получили 22 пациента с вторичным СФЭ и 9 – с идиопатическим СФЭ.

В группе вторичного СФЭ у 3 (13,6%) пациентов не получено ответа, у 7 больных состояние ухудшалось на фоне снижения дозы или сразу после отмены ГКС, 12 детей имели ПО на терапию (срок сохранения ответа от 2 нед до 6 лет, медиана 8 мес). Среди

Таблица 2
Диагностированные ПИДС у пациентов с СФЭ

Table 2
Diagnosed PID in patients with secondary ES

Диагноз Diagnosis	Тип наследования Inheritance	Число пациентов Number of patients	Ген (транскрипт по RefSeq) Gene (RefSeq transcript)	Генетический вариант; классификация варианта по ACMG Genetic variant; variant classification according to ACMG
Дефицит <i>CTLA4</i> <i>CTLA4</i> deficiency	АД AD	4	<i>CTLA4</i> (NM_005214)	1. c.160G>T, p.A54S; hetero; вероятно патогенный 2. c.151C>T, p.R51* (rs606231417); hetero; патогенный 3. c.385T>C (p.Cys129Arg); hetero; вероятно патогенный 4. Микроделеция участка длинного плеча 2-й хромосомы, включающий ген <i>CTLA4</i> 1. c.160G>T, p.A54S; hetero; likely pathogenic 2. c.151C>T, p.R51* (rs606231417); hetero; pathogenic 3. c.385T>C (p.Cys129Arg); hetero; likely pathogenic 4. Microdeletion in the long arm of chromosome 2 involving the <i>CTLA4</i> gene
Синдром ДиДжорджи DiGeorge Syndrome	АД AD	4	Делеция 22q11.21 22q11.21 deletion	
Синдром PIK3D PIK3D Syndrome	АД AD	3	<i>PIK3CD</i> (NM_005026)	1. c.3061G>A; p.E1021K; hetero; патогенный 2. c.3061G>A; p.E1021K; hetero; патогенный 3. c.859G>C, p.D287H; hetero; неясного клинического значения 1. c.3061G>A; p.E1021K; hetero; pathogenic 2. c.3061G>A; p.E1021K; hetero; pathogenic 3. c.859G>C, p.D287H; hetero; uncertain clinical significance
ОВИН CVID	АД AD	2	<i>NFKB1</i> (NM_003998)	1. c.1190delG, p.G397Afs*35; hetero; патогенный 2. Диагноз поставлен по совокупности клинико-лабораторных данных 1. c.1190delG, p.G397Afs*35; hetero; pathogenic 2. The diagnosis was based on clinical and laboratory findings
ОВИН + синдром Луи-Барр CVID + Louis-Bar Syndrome	АД AD АР AR	1	<i>NFKB1</i> (NM_003998) <i>ATM</i> (NM_000051)	c.1245_1246delTG, p.Y415*; hetero; патогенный c.5609dupT, p.T1871Hfs*3; hetero; патогенный c.7788G>A, p.E2596=; hetero; патогенный c.1245_1246delTG, p.Y415*; hetero; pathogenic c.5609dupT, p.T1871Hfs*3; hetero; pathogenic c.7788G>A, p.E2596=; hetero; pathogenic
RAS-ассоциированные заболевания RAS-associated disorder	Соматические (RALD) Somatic (RALD)	2	<i>KRAS</i> (NM_004985)	1. c.37G>T, p.G13C; hetero; патогенный; соматический 2. c.37G>T, p.G13C; hetero; патогенный; соматический? 1. c.37G>T, p.G13C; hetero; pathogenic; somatic 2. c.37G>T, p.G13C; hetero; pathogenic; somatic?
	АД AD	1		c.64C>A, p.Q22K; hetero; вероятно патогенный; герминальный c.64C>A, p.Q22K; hetero; likely pathogenic; germline
Синдром Вискотта-Олдрича Wiskott-Aldrich Syndrome	Х-сцепленный рецессивный X-linked recessive	1	<i>WAS</i> (NM_000377)	c.777+1G>A; p.?.; hemi; патогенный ¹ c.777+1G>A; p.?.; hemi; pathogenic ¹
АЛПС ALPS	АД AD	2	<i>FAS</i> (NM_000043)	1. c.874_880del, p.Asp292Ter; hetero; патогенный 2. c.779A>G, p.D260G; hetero; неясного клинического значения 1. c.874_880del, p.Asp292Ter; hetero; pathogenic 2. c.779A>G, p.D260G; hetero; uncertain clinical significance
Синдром Луи-Барр Louis-Bar Syndrome	АР AR	2	<i>ATM</i> (NM_000051)	1. c.5609dupT, p.T1871Hfs*3; hetero; патогенный c.7788G>A, p.E2596= (rs587780639); hetero; патогенный 2. Диагноз установлен по совокупности клинико-лабораторных данных 1. c.5609dupT, p.T1871Hfs*3; hetero; pathogenic c.7788G>A, p.E2596= (rs587780639); hetero; pathogenic 2. The diagnosis was based on clinical and laboratory findings
Синдром Кабуки Kabuki Syndrome	АД AD	2	<i>KMT2D</i> (NM_003482)	1. c.15088C>T, p.R5030C; hetero; патогенный 2. c.676G>T, p.E226*; hetero; патогенный 1. c.15088C>T, p.R5030C; hetero; pathogenic 2. c.676G>T, p.E226*; hetero; pathogenic
LRBA-синдром LRBA deficiency	АР AR	1	<i>LRBA</i> (NM_006726)	c.1359G>C, p.Q453H; homo; вероятно патогенный ² c.1359G>C, p.Q453H; homo; likely pathogenic ²
Дефект <i>STAT1</i> <i>STAT1</i> deficiency	АД/АР AD/AR	1	<i>STAT1</i> (NM_007315)	c.1154C>T; p.T385M; hetero; патогенный c.1154C>T; p.T385M; hetero; pathogenic
Синдром МакКьюсика-Кауфмана McKusick-Kaufman Syndrome	АР AR	1	<i>RMRP</i> (NR_003051)	g.-5A>G; hetero; неясного клинического значения g.93A>G; hetero; неясного клинического значения g.-5A>G; hetero; uncertain clinical significance g.93A>G; hetero; uncertain clinical significance
ПИДС, недифференцированный PID undifferentiated		12	—	

Примечание. АД – аутосомно-доминантный; АР – аутосомно-рецессивный. Если не указано, то варианты находили в гетерозиготном состоянии при АД типе наследования, в компаунд-гетерозиготном – при АР типе наследования. ¹ – вариант выявлен в гемизиготном состоянии; ² – вариант выявлен в гомозиготном состоянии. Мутации вероятно патогенные и неясного клинического значения требуют проведения дополнительных исследований, однако диагноз ПИДС этим пациентам был выставлен по совокупности клинико-лабораторных данных.

Notes. CVID – Common Variable Immune Deficiency; ALPS autoimmune lymphoproliferative syndrome; PID – Primary immunodeficiency; AD – autosomal dominant; AR – autosomal recessive. If not specified, then the variants in question were found in the heterozygous state in cases of AD inheritance; and in the compound heterozygous state – in cases of AR inheritance. ¹ – the variant was found in the hemizygous state; ² – the variant was found in the homozygous state. Likely pathogenic mutations and mutations of uncertain clinical significance require further investigation, yet these patients were still diagnosed with PID based on clinical and diagnostic findings.

Таблица 3
Результаты прямой пробы Кумбса

Table 3
The results of Coombs test (DAT)

Параметр Parameter	Число пациентов Number of patients
Всего Total	20
IgG	10 (50%)
IgG + IgG1	4 (20%)
IgG + C3d	3 (15%)
IgG + IgA	1 (5%)
IgG + IgG1 + IgA	1 (5%)
C3d	1 (5%)

пациентов с идиопатическим СФЭ у 3 пациентов наблюдалось ухудшение в процессе снижения дозы или сразу после отмены ГКС, 6 больных имели ПО (срок сохранения ответа от 1 мес до 4 лет, медиана 10 мес). Таким образом, монотерапия ГКС оказалась кратковременно эффективной у 18 из 31 больного (58% всех получивших данное лечение в первой линии).

Монотерапию ВВИГ в курсовой дозе 1 г/кг получили 10 пациентов с вторичным СФЭ (5 детей – не ответили, 5 – имели ПО с его сохранением в течение 1 нед – 6 мес) и 2 ребенка с идиопатическим СФЭ (1 – ПО длительностью 2 мес, 1 – ЧО с длительностью 2 нед). В целом монотерапия ВВИГ не позволила достичь стойкой ремиссии ни в одном случае, кратковременный ответ (ПО или ЧО) был констатирован у 58,3% пациентов, получавших монотерапию ВВИГ.

Комбинированная терапия ГКС и ВВИГ была проведена 14 пациентам с вторичным СФЭ и 8 – с идиопатическим СФЭ. Отсутствие ответа наблюдалось у 1 (7%) пациента с вторичным СФЭ, у 3 детей развилось ухудшение на фоне снижения дозы ГКС или сразу после его отмены. Десять пациентов со вторичным СФЭ ответили на комбинированную терапию (из них 2 ЧО), медиана сохранения ответа – 3 (от 1 до 16) мес.

Среди пациентов с идиопатическим СФЭ 5 детей имели ПО (3 ребенка сохранили ответ от 1 мес до 1 года, 2 – ПО без дополнительной терапии на момент проведения анализа) и 2 пациента – ЧО. Еще 1 пациентка получила 6 курсов комбинированной терапии ВВИГ и ГКС, после последнего курса к терапии был добавлен также элтромбопаг для купирования сохраняющейся тромбоцитопении. У этой пациентки по настоящее время сохраняется стойкая ремиссия.

Таким образом, на терапию первой линии в виде комбинации ГКС и ВВИГ ответ (ПО или ЧО) получен у 18 больных, однако стойкая ремиссия достигнута только у 3 из 22 пациентов (13,6% от получивших данную терапию), не ответили на лечение 4 из 22 детей (18,2% от получивших данную терапию), оставшиеся имели непродолжительную ремиссию.

В качестве первой линии терапии 1 пациент с вторичным СФЭ сразу получил микофенолата мофетил (ММФ) с сохранением стойкой ремиссии без другой терапии на момент анализа.

Назначения терапии второй и последующих линий в обеих группах потребовали примерно одинаковое число пациентов ($p > 0,05$): при идиопатическом СФЭ – 75% (9 из 12 пациентов) и при вторичном СФЭ – 87% (34 из 39 пациентов).

При вторичном СФЭ вторую линию терапии получили 34 пациента (рисунки 1); третью линию – 21 (рисунки 1); четвертую линию – 11 (рисунки 2); пятую линию – 4 (рисунки 2); шестую линию – 1 больной (рисунки 2).

С идиопатическим СФЭ вторую линию терапии получили – 9 пациентов, третью линию – 5; четвертую линию – 2 (рисунки 3).

Препараты, которые в основном назначались в качестве терапии второй линии в обеих группах, были ритуксимаб, ММФ и их комбинация. Эффективность монотерапии ритуксимабом среди пациентов со вторичным СФЭ составила 77% (10 из 13 пациентов), ответ сохранялся от 3 мес до 3 лет, из них 2 (20%) человека на момент проведения анализа не нуждались в другой терапии. У 1 пациента развилась анафилактическая реакция на введение ритуксимаба. Среди пациентов с идиопатическим СФЭ ответили 75% (3 из 4 пациентов), ответ сохранялся от 2 мес до 1 года, все пациенты перешли затем на следующие линии терапии.

Частота ответа на ММФ в группе вторичного СФЭ составила 91% (11 из 12 пациентов), при этом не нуждались в какой-либо последующей терапии 4 (36,4%) пациента. Среди 11 ответивших пациентов у 2 не удалось продолжить терапию из-за развития почечной токсичности ($n = 1$) и плохой переносимости лечения ($n = 1$). Среди пациентов с идиопатическим СФЭ ответ на ММФ наблюдался в 100% случаев (ПО – 75% и ЧО – 25%), из них 75% детей длительно сохраняют ремиссии.

Комбинация препаратов ритуксимаб и ММФ оказалась эффективной у всех пациентов с идиопатическим ($n = 2$) и вторичным ($n = 10$) СФЭ. Сохранили длительную ремиссию 8 (80%) пациентов со вторичным СФЭ и 2 (100%) – с идиопатическим СФЭ.

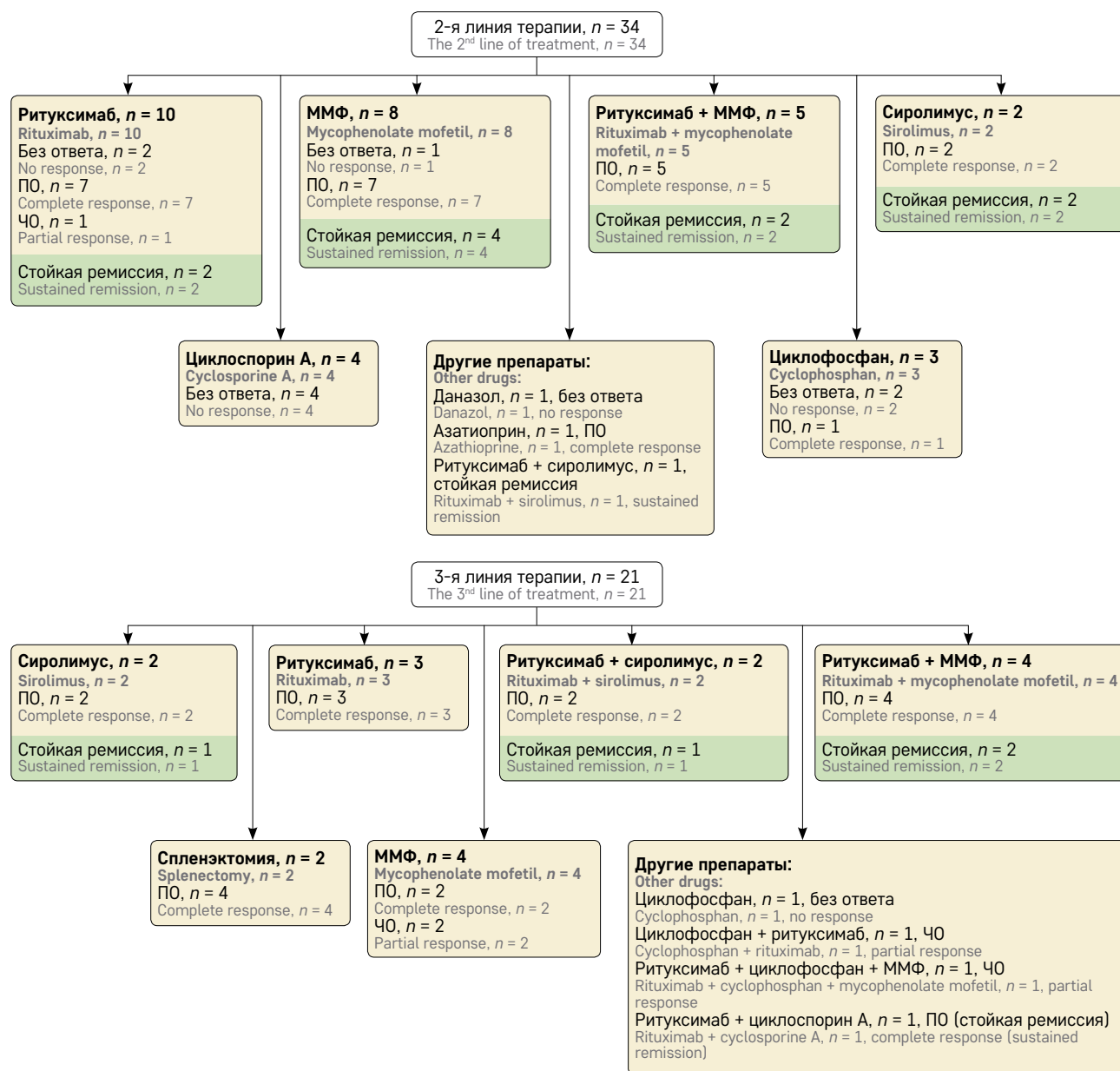
Сиролимус применялся в качестве монотерапии и в комбинации с ритуксимабом в нашем исследовании только среди пациентов с вторичным СФЭ. Монотерапия сиролимусом показала эффективность 83% (10 из 12 пациентов ответили), стойкую ремиссию сохранили 8 (80%) детей. У 1 пациента наблюдалась плохая переносимость лечения, в связи с чем препарат был отменен до момента оценки возможного ответа. Ответили на комбинацию с ритуксимабом все пациенты ($n = 4$), стойкая ремиссия сохраняется у 3 (75%) детей.

Рисунок 1

Терапия второй и третьей линий вторичного СФЭ

Figure 1

Second-line and third-line treatment for secondary ESy



Другими препаратами, используемыми в качестве второй и последующих линий терапии в обеих группах, были: циклоспорин А (ПО – 16,7%), циклофосфамид (ПО – 16,7%, ЧО – 16,7%), азатиоприн (ПО – 33,3%), бортезомиб (n = 1, ЧО), даназол (n = 1, без ответа). Спленэктомия оказалась эффективной у 2 (67%) из 3 пациентов с вторичным СФЭ. Еще 1 ребенку была проведена процедура плазмафереза без значимого эффекта.

У единичных пациентов на этапе третьей и четвертой линий применялась различная комбинированная иммуносупрессивная терапия: циклофосфамид и ритуксимаб (n = 1, ЧО); циклофосфамид, ритуксимаб и ММФ (n = 1, ЧО); ритуксимаб и цикло-

спорин А (n = 1, стойкая ремиссия); ритуксимаб и ГКС (n = 1, стойкая ремиссия).

Дополнительно к основной иммуносупрессивной терапии 6 пациентам назначались препараты агонистов рецептора тромбопоэтина для улучшения ответа со стороны тромбоцитопении. У 2 (33,3%) пациентов получен ПО.

В группе вторичных СФЭ 5 пациентам была проведена ТГСК в качестве радикальной терапии диагностированного ПИДС. Умерли 2 пациента через 10 и 4 мес от ТГСК. У 3 детей через 10, 12 и 6 месяцев после ТГСК состояние стабильное, соответствует срокам посттрансплантационного периода, без признаков аутоиммунных цитопений.

Рисунок 2
Терапия 4–6-й линий терапии вторичного СФЭ

Figure 2
The 4th–6th lines of treatment for secondary ES

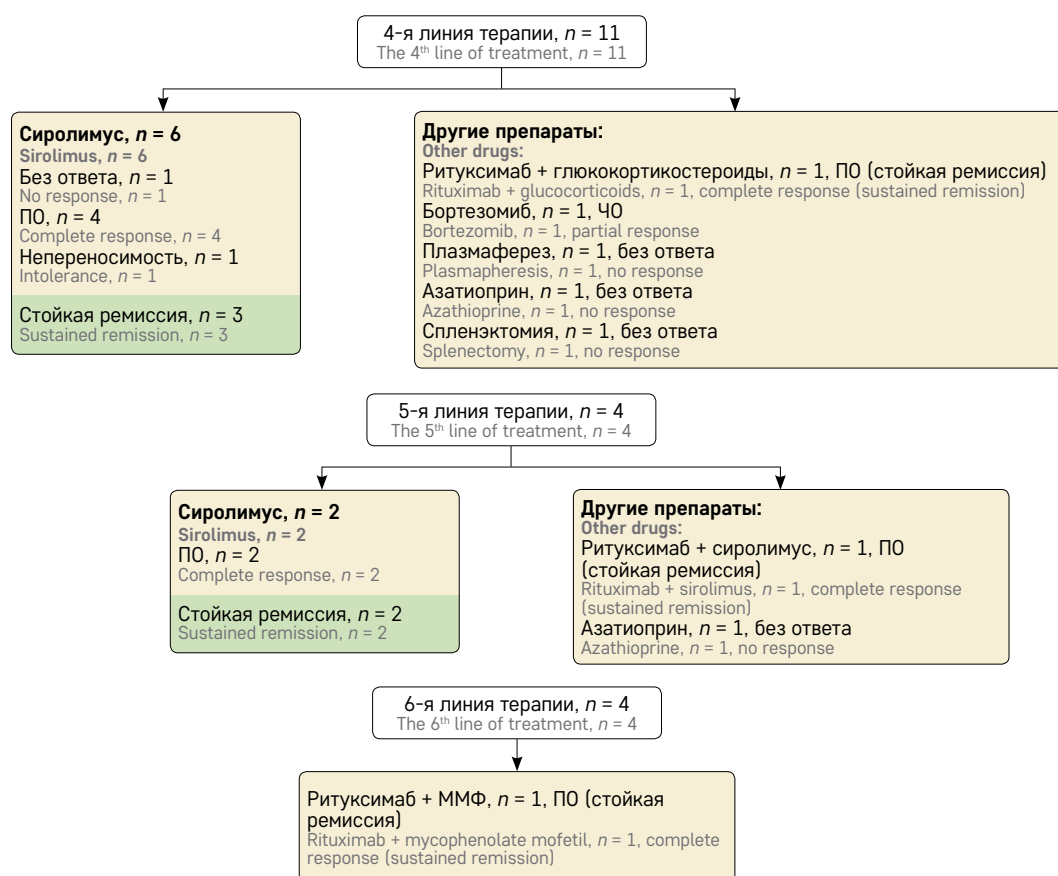
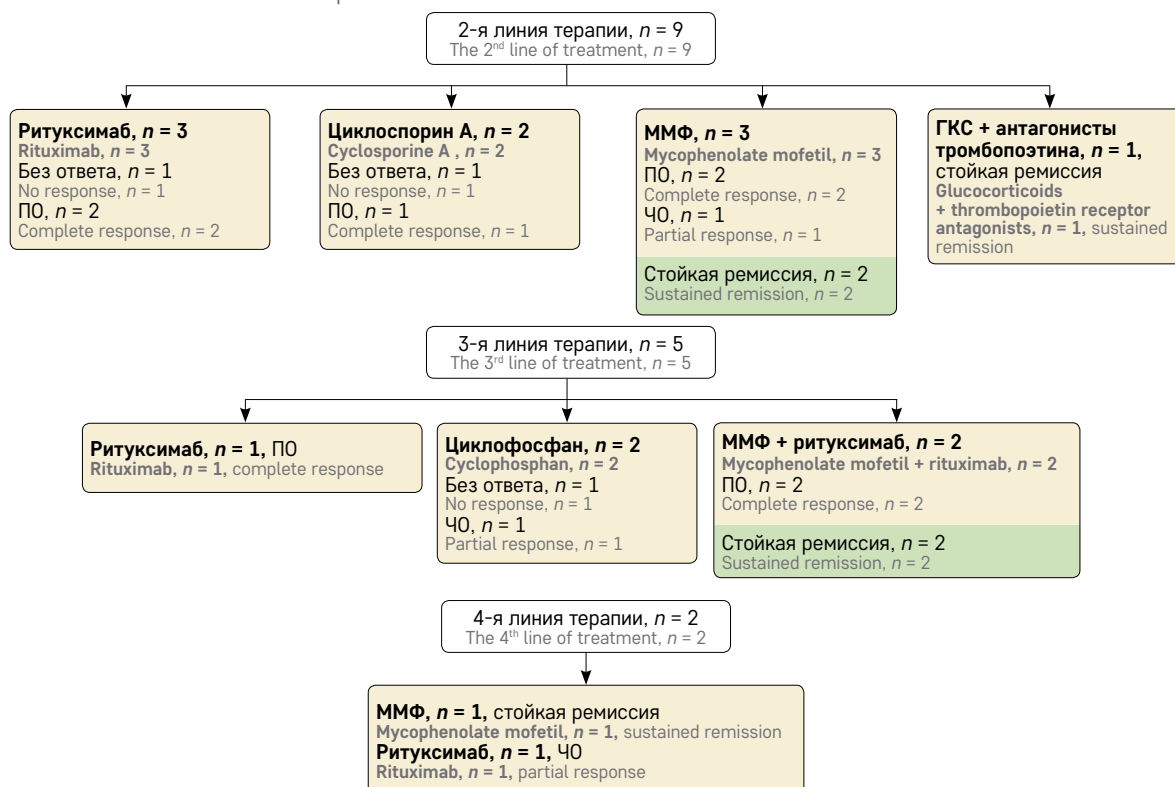


Рисунок 3
Терапия 2–4-й линий терапии идиопатического СФЭ

Figure 3
The 2nd–4th lines of treatment for idiopathic ES



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

По данным нашей работы можно отметить, что более 70% пациентов детского возраста с СФЭ имеют предрасполагающий иммунный дефект, что согласуется с результатами исследования N. Aladjidi и соавт. [7] и I. Al Ghaithi и соавт. [4]. Оставшиеся пациенты с идиопатическим СФЭ, возможно, также имеют нарушения иммунной регуляции, однако пока возможности диагностики не позволяют их выявить. В нашей когорте пациентов СФЭ дебютировал с изолированной цитопенией в 72,5% случаев (ИТП – 43,1%, АИГА – 29,4%), что несколько чаще, чем было описано ранее (54% случаев) [7]. Длительность промежутка до развития второй цитопении в среднем составила 2 года, что аналогично ранее опубликованным данным [7].

Стоит также помнить о дифференциальной диагностике пациентов с СФЭ, что может драматически сказаться на эффективности терапии и исходе заболевания. Врожденная ТТП может скрываться под «маской» СФЭ, но она не является аутоиммунным заболеванием и поэтому не требует иммуносупрессивной терапии.

Результаты нашего исследования еще раз подчеркивают крайне низкую эффективность использования ГКС, ВВИГ и их комбинации в качестве первой линии терапии. Из всех пациентов в нашем исследовании ($n = 51$) стойкая ремиссия на терапию первой линии была достигнута у 3 (5,9%), при этом монотерапия как ГКС, так и ВВИГ не была в состоянии добиться продолжительной ремиссии (все ПО и ЧО были весьма короткими) [4, 7, 8]. В подавляющем

большинстве анализируемых случаев у пациентов детского и подросткового возраста с СФЭ потребовалась терапия второй и последующих линий, что подтверждает литературные данные о сложности терапии данного заболевания [7].

При анализе нашей когорты обращала на себя внимание необходимость использования большего числа линий терапии у пациентов, имевших вторичный СФЭ (рисунк 4), что говорит о его более резистентном течении.

Монотерапия ритуксимабом в разных линиях терапии была проведена 17 больным (13 детей со вторичным СФЭ и 4 – с идиопатическим СФЭ). Ответ (ПО или ЧО) был достигнут в 13 (76,5%) случаях, при этом стойкая ремиссия констатирована у 2 (15,4%) пациентов.

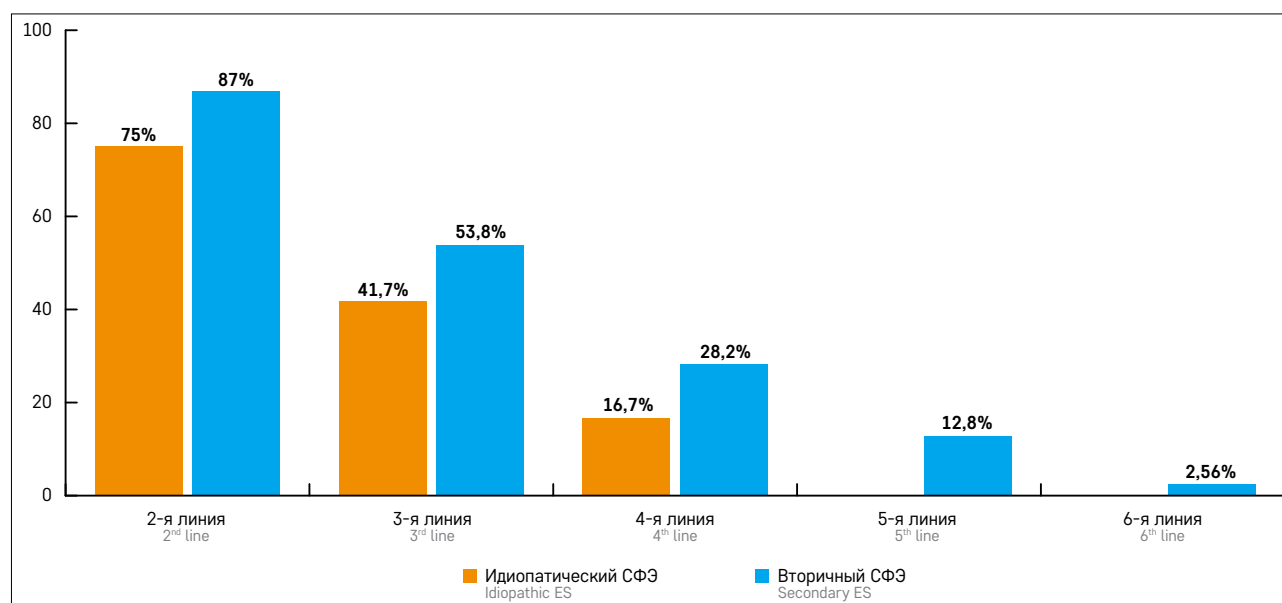
Монотерапию ММФ в разных линиях терапии СФЭ получили всего 17 пациентов (13 детей со вторичным СФЭ и 4 – с идиопатическим СФЭ). Ответы на терапию (ПО и ЧО) 16 (94%) детей, из них в 8 (50%) случаях была достигнута стойкая ремиссия. В 2 случаях отмечена непереносимость ММФ, потребовавшая отмены препарата.

Комбинированное лечение ритуксимабом и ММФ в разных линиях терапии проведено 12 больным (10 детей со вторичным СФЭ и 2 – с идиопатическим СФЭ). ПО получен у всех больных (100%), при этом стойкая ремиссия – у 10 (83,3%) пациентов.

Таким образом, учитывая низкую общую эффективность препаратов первой линии и в целях снижения рисков развития осложнений, для терапии СФЭ у детей и подростков наиболее целесообразно использовать комбинированную терапию ритуксимабом и ММФ или монотерапию ММФ как можно

Рисунок 4
Количество линий терапии у пациентов с СФЭ

Figure 4
The number of lines of treatment in patients with ES



раньше, оптимально в первой линии, но не позже второй линии терапии.

Возможность безопасного длительного применения ММФ в терапии детей и подростков с СФЭ была показана N. Aladjidi и соавт. и M. Miano [3, 7]. В нашем исследовании непереносимость ММФ была отмечена только в 2 случаях, что составило 6,9% всех пациентов ($n = 29$), получавших препарат в монорежиме ($n = 17$) или в составе комбинированной терапии ($n = 12$).

Для пациентов, которые не ответили на терапию ММФ или комбинацию ритуксимаба и ММФ, в качестве следующей опции, основываясь на полученных нами данных о высокой эффективности, может быть рекомендована терапия сиролимусом в монорежиме или в комбинации с ритуксимабом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пациентам с СФЭ в детском возрасте необходимо проводить более углубленное обследование, включая иммунологическое и генетическое, в целях своевременной диагностики предрасполагающего иммуно-

дефицитного состояния и исключения врожденной ТТП. Это важно в первую очередь для дальнейшей тактики ведения и терапии пациента, что в итоге будет определять прогноз. При выборе терапии необходимо помнить, что использование ритуксимаба и ММФ в комбинации наиболее эффективно в случае развития рецидива или неэффективности первой линии терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Pshonkin A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2057-2036>

Raikina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

Suntsova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8404>

Shvets O.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5347-7150>

Mukhina A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3305-1694>

Kuzmenko N.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1669-8621>

Shcherbina A.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3113-4939>

Maschan A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Smetanina N.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8805-1499>

Литература

1. Evans R.S., Takahashi K., Duane R.T., Payne R., Liu C. Primary thrombocytopenic purpura and acquired hemolytic anemia; evidence for a common etiology. *AMA Arch Intern Med* 1951; 87 (1): 48–65.
2. Michel M., Chanet V., Dechartres A., Morin A.S., Piette J.C., Cirasino L., et al. The spectrum of Evans syndrome in adults: new insight into the disease based on the analysis of 68 cases. *Blood*. 2009;114(15):3167–72.
3. Miano M. How I manage Evans syndrome and AIHA cases in children. *Br J Haematol* 2016; 172: 524–34.
4. Al Ghaithi I., Wright N.A.M., Breakey V.R., Cox K., Warias A., Wong T., et al. Combined autoimmune cytopenias presenting in childhood. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (2): 292–8.
5. Despotovic J.M. Immune Hematology. Diagnosis and Management of Autoimmune Cytopenias. Springer; 2018.
6. Seidel M.G. Autoimmune and other cytopenias in primary immunodeficiency: pathomechanisms, novel differential diagnoses, and treatment. *Blood* 2014; 124 (15): 2337–44.
7. Aladjidi N., Fernandes H., Leblanc T., Vareliette A., Rieux-Laucat F., Bertrand Y., et al. Evans syndrome in children: long-term outcome in prospective French national observation cohort. *Front Pediatr* 2015; 3: 79.
8. Сунцова Е.В., Байдильдина Д.Д., Кузьмина Ж.А., Калинина И.И., Петрова У.Н., Салимова Т.Ю. и др. Синдром Фишера–Эванса. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2018; 17 (1): 75–86.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 29.01.2021
Принята к печати 25.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-84-96

Несфероцитарная гемолитическая анемия, вызванная дефицитом пируваткиназы эритроцитов: анализ генных нарушений пациентов детского возраста в Российской Федерации

Е.А. Черняк¹, Н.Е. Соколова², К.В. Семиглазова¹, И.Н. Лаврентьева³, Е.К. Донюш⁴, О.И. Плаксина⁵, М.В. Борисова⁶, Н.А. Данилюк⁷, Е.С. Митрофанова⁸, И.П. Батурская⁹, Н.Г. Ревина¹⁰, Т.И. Бурлуцкая¹¹, М.А. Раков¹², А.В. Евстратов¹³, О.М. Целоусова¹⁴, В.В. Лебедев¹⁵, Н.В. Чаплыгина¹⁶, И.В. Корякина¹⁷, Н.С. Осмульская¹⁸, Е.И. Афанасьева¹⁹, О.Е. Никонова²⁰, Л.И. Соколова²¹, Е.Х. Цыденешеева²², И.М. Юнусова²³, Е.О. Зауралов²⁴, И.В. Осипова²⁵, К.С. Асланян²⁶, Е.В. Сипачёва²⁷, О.П. Болдырева²⁸, Г.Р. Казарян²⁹, Е.В. Башарова³⁰, С.Г. Манн¹, М.А. Курникова¹, Е.В. Райкина¹, Н.С. Сметанина¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²СПб ГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий», Санкт-Петербург

³ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

⁴Российская детская клиническая больница ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

⁵ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница», Нижний Новгород

⁶Перинатальный центр КГБУЗ «Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства», Красноярск

⁷ГБУЗ «Областной онкологический диспансер», Пенза

⁸ГУЗ «Тульская детская областная клиническая больница», Тула

⁹ГБУЗ АО «Амурская областная детская клиническая больница», Благовещенск

¹⁰ГБУЗ АО «Архангельская областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова», Архангельск

¹¹ОГБУЗ «Детская областная клиническая больница», Белгород

¹²ГБУЗ «Брянская областная детская больница», Брянск

¹³ГБУЗ КО «Калужская областная клиническая детская больница», Калуга

¹⁴ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России, Киров

¹⁵ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар

¹⁶ОБУЗ «Областная детская клиническая больница», Курск

¹⁷ГУЗ «Областная детская больница», Липецк

¹⁸БУЗ ОО «Областная детская клиническая больница», Омск

¹⁹ГБУЗ «Областная детская клиническая больница», Оренбург

²⁰Детский онкогематологический центр им. Ф.П. Газа ГБУЗ «Пермская краевая детская клиническая больница», Пермь

²¹ГБУЗ РМЭ «Йошкар-Олинская детская городская больница». Республиканский детский онкогематологический центр, Йошкар-Ола

²²ГУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения Республики Бурятия, Улан-Удэ

²³ГБУЗ РД «Детская республиканская клиническая больница им. Н.М. Кураева» Министерства здравоохранения Республики Дагестан, Махачкала

²⁴ГБУЗ РМ «Детская республиканская клиническая больница», Саранск

²⁵ГБУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения Республики Татарстан, Казань

²⁶ГБУЗ РО «Областная детская клиническая больница», Ростов-на-Дону

²⁷ГБУЗ «Тамбовская областная детская клиническая больница», Тамбов

²⁸ГБУЗ ТО «Областная детская клиническая больница №1», Тюмень

²⁹БУ «Нижевартонская окружная клиническая детская больница», Нижневартонск

³⁰ГБУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница», Челябинск

Контактная информация:

Черняк Екатерина Александровна,
научный сотрудник отдела оптимизации
лечения гематологических заболеваний
НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: ekaterina.chernyak@fccho-moscow.ru

В статье представлен ретроспективный анализ группы пациентов с дефицитом пируваткиназы эритроцитов ($n = 41$; медиана возраста – 5 лет 1 месяц: от 4 месяцев до 26 лет 6 месяцев), проходивших обследование в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева по поводу неуточненной наследственной гемолитической анемии в период с 2013 по 2020 г. Данное исследование одобрено локальным этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Всем пациентам диагноз был подтвержден молекулярно-генетическим исследованием, выполненным методом высокопроизводительного секвенирования ДНК (NGS). Гомозиготные мутации в гене *PKLR* были обнаружены у 10 (24,39%) пациентов, компаунд-гетерозиготные мутации – у 31 (75,61%). Среди них

77,78% составили миссенс-мутации. Распределение по полу (мужской:женский) составило 1:1,73. Хотя бы однократно трансфузия эритроцитарной взвеси потребовалась 40 (97,56%) пациентам. Минимальный возраст на момент дебюта трансфузионной зависимости – 1 сутки жизни, максимальный – 4 года. Заменное переливание крови было выполнено 13 детям, тяжелая нормоцитарная гиперрегенераторная анемия с проведением заместительной терапии эритроцитарной взвесью в первые месяцы жизни отмечена у 12 пациентов: на 1-м месяце – у 9, на 2-м месяце – у 8, на 3-м месяце – у 6, на 5-м месяце – у 2 детей, на 1-м году жизни – у 1 ребенка, а у 2 детей трансфузии были выполнены однократно на фоне инфекционных эпизодов в 3 и 4 года. Спленэктомия в связи с высокой трансфузионной зависимостью выполнена 10 пациентам: трансфузионная независимость достигнута у 5 детей, у 5 – увеличение интервала между гемотрансфузиями. Медиана возраста проведения оперативного вмешательства составила 7 лет 4 месяца (от 1 года до 14 лет). Всего у 41 пациента было описано 36 генотипов: с.1529G>A – у 3 детей, с.1137_1139del/c.1456C>T – у 2, с.1079G>A/c.1529G>A – у 2, с.1130T>C/c.1456C>T – у 2, остальные генотипы встречались однократно. С наибольшей частотой встречались 2 мутации: с.1456C>T (16,67%) и с.1529G>A (16,67%). У 19 (46,34%) пациентов зафиксированы ранее не описанные мутации.

Ключевые слова: гемолитическая анемия, дефицит пируваткиназы, пируваткиназа, наследственная несфероцитарная анемия, дети, генетические мутации, мультицентровое исследование

Черняк Е.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 84–96.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-84-96

Non-spherocytic hemolytic anemia caused by erythrocyte pyruvate kinase deficiency: the analysis of genetic defects in pediatric patients, living in Russian Federation

E.A. Cherniak¹, N.E. Sokolova², K.V. Semiglazova¹, I.N. Lavrentyeva³, E.K. Donush⁴, O.I. Plaksina⁵, M.V. Borisova⁶, N.A. Danilyuk⁷, E.S. Mitrofanova⁸, I.P. Baturskaya⁹, N.G. Revina¹⁰, T.I. Burlutskaya¹¹, M.A. Rakov¹², A.V. Evstratov¹³, O.M. Tselousova¹⁴, V.V. Lebedev¹⁵, N.V. Chaplygina¹⁶, I.V. Koryakina¹⁷, N.S. Osmulskaya¹⁸, E.I. Afanasyeva¹⁹, O.E. Nikonova²⁰, L.I. Sokolova²¹, E.Kh. Tsedenisheeva²², I.M. Yunusova²³, E.O. Zauralov²⁴, I.V. Osipova²⁵, K.S. Aslanyan²⁶, E.V. Sipacheva²⁷, O.P. Boldyreva²⁸, G.R. Kazaryan²⁹, E.V. Basharova³⁰, S.G. Mann¹, M.A. Kurnikova¹, E.V. Raikina¹, N.S. Smetanina¹

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²Children's City Multidisciplinary Clinical Specialized Center of High Medical Technologies, Saint-Petersburg

³Morozov Children's City Clinical Hospital, Department of Health in Moscow, Moscow

⁴Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

⁵Regional Children's Clinical Hospital, Nizhny Novgorod

⁶Krasnoyarsk Regional Clinical Center for Maternity and Childhood Protection, Perinatal Center, Krasnoyarsk

⁷Regional Oncological Dispensary, Penza

⁸Children's Regional Clinical Hospital, Tula

⁹Amur Regional Children's Clinical Hospital, Blagoveshchensk

¹⁰Regional Children's Clinical Hospital named after P.G. Vyzhetsova, Arkhangelsk

¹¹Children's Regional Clinical Hospital, Belgorod

¹²Regional Children's Hospital, Bryansk

¹³Regional Clinical Children's Hospital, Kaluga

¹⁴Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, FMBA of Russia, Kirov

¹⁵Children's Regional Clinical Hospital, Krasnodar

¹⁶Regional Children's Clinical Hospital, Kursk

¹⁷Regional Children's Hospital, Lipetsk

¹⁸Regional Children's Clinical Hospital, Omsk

¹⁹Regional Children's Clinical Hospital, Orenburg

²⁰Perm Regional Children's Clinical Hospital, Perm

²¹Children's city hospital, Republican Children's Oncohematological Center, Yoshkar-Ola

²²Children's Republican Clinical Hospital, Ulan-Ude

²³N.M. Kuraev Children's Republican Clinical Hospital, Ministry of Healthcare of the Republic of Dagestan, Makhachkala

²⁴Children's Republican Clinical Hospital, Saransk

²⁵Regional Children's Clinical Hospital, Kazan

²⁶Regional Children's Clinical Hospital, Rostov-on-Don

²⁷Regional Children's Clinical Hospital, Tambov

²⁸Regional Clinical Hospital №1, Tyumen

²⁹Regional Children's Clinical Hospital, Nizhnevartovsk

³⁰Regional Children's Clinical Hospital, Chelyabinsk

The article presents retrospective data analysis of a cohort of patients with PKD ($n = 41$ patients, aged 4 months – 26.5 years, median of age – 5 years 1 month) who were examined at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology for unspecified hereditary hemolytic anemia during the period 2013–2020. The study was approved by the Independent Ethics Committee of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. In all patients, the diagnosis was confirmed by Next Generation sequencing (NGS). The homozygous mutations in the *PKLR* gene were found in 10 patients (24.39%), compound heterozygous mutations in 31 patients (75.61%), 77.78% of them were missense mutations. Gender distribution (male:female) was 1:1.73. At least once transfusion of erythrocyte suspension was required to 40 (97.56%) patients. The minimum age at the time of the debut of transfusion dependence was the first day of life, the maximum was 4 years. Exchange blood transfusion was performed in 13 children, severe normocytic hyperregenerative anemia with transfusion of red blood cells in the first days of life was noted in 12 children, at the 1st month of life – in 9 children, at the 2nd month of life – in 8 children, at the 3rd month – in 6 children, at the 5th month – in 2 children, at the 1st year – in 1 child, and 2 children underwent single transfusions on the background of infectious episodes at 3 and 4 years respectively. Splenectomy due to high transfusion dependence was performed in 10 patients: transfusion independence was achieved in 5 patients, in 5 – an increase in the interval between blood transfusions. Median of surgical intervention (9 patients): 7 years 4 months, minimum age – 1 year 4 months, maximum – 14 years 4 months. In total, 36 genotypes were described in 41 patients, among them were: с.1529G>A in 3 patients, с.1137_1139del / с.1456C>T – in 2 patients, с.1079G>A/c.1529G>A in 2 patients, с.1130T>C/c.1456C>T in 2 patients, other genotypes occurred once. Two mutations were the most frequent: с.1456C>T (16.67%) and с.1529G>A (16.67%). 19 (46.34%) of patients had previously not described mutations.

Key words: hemolytic anemia, pyruvate kinase deficiency, pyruvate kinase, hereditary non-spherocytic anemia, genetic mutations, multicenter study

Cherniak E.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 84–96.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-84-96

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 29.01.2021

Accepted 25.02.2021

Correspondence:

Ekaterina A. Cherniak,
scientific co-worker of the department of
optimizing of treatment of hematological
diseases, Dmitry Rogachev National
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology, Moscow, Russian
Federation
Address: Russia, 1179971,
Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: ekaterina.chernyak@fccho-moscow.ru

Наследственная несфероцитарная гемолитическая анемия в результате дефекта пируваткиназы (ДПК) занимает одно из первых мест по распространенности среди всех несфероцитарных гемолитических анемий [1], а также является самой частой ферментопатией гликолитического пути эритроцитов [2, 3]. W.N. Valentine и соавт. описали данное заболевание в 1961 г. [4]. Впервые точечные мутации в гене *PKLR*, расположенном на хромосоме 1q21 и состоящем из 12 экзонов, описаны в 1991 г. [5, 6].

В результате гомозиготных либо компаунд-гетерозиготных мутаций в гене *PKLR* снижается выработка фермента пируваткиназы (ПК). Это один из основных ферментов гликолиза, катализирующий в цикле Кребса процесс превращения фосфоенолпирувата в пируват с образованием молекулы аденозинтрифосфата (АТФ). В условиях дефицита фермента нарушается ключевая реакция гликолиза, дающая около 50% АТФ эритроцитов. Недостаточное количество энергии нарушает электрохимический градиент мембраны эритроцитов, сокращая продолжительность их жизни, с преждевременной элиминацией их из кровотока селезенкой [7, 8]. В настоящее время в гене *PKLR* описано больше 300 мутаций [9, 10]. Не описанные ранее мутации гена *PKLR* встречаются примерно у 25% пациентов [11].

Описаны мутации во всех 12 экзонах (чаще всего встречаются экзоны 7, 8, 9 и 11), а также единичные мутации в промоторной области гена [12]. Большую часть мутаций составляют точечные миссенс-мутации, приводящие к функциональным и/или структурным нарушениям белка (66–70% от общего числа мутаций в зависимости от географического региона), и мутации сайта сплайсинга (13%) [11–14]. Для некоторых стран обнаружены более частые мутации гена *PKLR*: замена с.1529G>A (p.R510Q) у пациентов Северной и Центральной Европы и США; с.1456C>T (p.R486W) – в странах Южной и Западной Европы; с. 1468C>T (p.R490W) – в странах Азии [15–18]. Данные международных публикаций, в которых был выполнен анализ клинической картины, информация об активности ПК *in vitro*, а также результаты молекулярно-генетического исследования продемонстрировали взаимосвязь между более тяжелым течением заболевания и наличием нонсенс-мутаций или миссенс-мутаций, затрагивающих активный центр фермента или влияющих на его стабильность [17, 19].

Многообразие патогенных вариантов, каждый из которых оказывает различное влияние на активность ПК, приводит к широкой вариабельности фенотипических особенностей заболевания и затрудняет анализ корреляции генотипа и тяжести клинических проявлений у пациентов. Отсутствие характерных прояв-

лений, отличающих ДПК от других наследственных несфероцитарных гемолитических анемий, трудности диагностики с необходимостью использования специфических методов исследования (молекулярно-генетическое исследование, определение активности фермента) затрудняют оценку частоты встречаемости данной нозологической формы. В зависимости от географического региона данные о частоте встречаемости варьируют от 3 до 5 на 1 000 000 человек [20].

Возраст манифестации ДПК также может отличаться: от дебюта в антенатальном периоде с водянки плода и потребности в регулярных трансфузиях эритроцитной взвеси с рождения до трансфузионно независимого течения заболевания с анемией легкой степени тяжести и хроническим субкомпенсированным гемолизом. Кроме того, с возрастом возможно изменение тяжести течения заболевания в сторону как увеличения, так и сокращения интервалов между трансфузиями. К общим проявлениям заболевания относятся повышенная утомляемость, одышка, иктеричность кожных покровов и склер, спленомегалия, а также желчнокаменная болезнь (ЖКБ) и вторичная перегрузка железом. Примерно у 10% пациентов развиваются очаги экстрамедуллярного кроветворения в результате неэффективного эритропоэза [20]. Также описана корреляция определенных генотипов с печеночной недостаточностью [21].

На сегодняшний день «золотым стандартом» диагностики ДПК является определение активности фермента с обязательным проведением молекулярно-генетического исследования гена *PKLR*, что затрудняет постановку диагноза для пациентов в Российской Федерации (РФ) в связи с малодоступностью данных методов.

Цель данной работы: провести анализ генных нарушений при несфероцитарной гемолитической анемии, вызванной ДПК эритроцитов, у пациентов детского возраста в РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное многоцентровое ретроспективное исследование одобрено локальным этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Нами были проанализированы данные пациентов, обращавшихся в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России в связи с неуточненной наследственной гемолитической анемией в период с 2013 по 2020 г. Проанализирована имеющаяся медицинская документация (выписки, результаты обследования). Распределение пациентов по регионам России представлено на *рисунке 1*.

Рисунок 1

Распределение пациентов с ДПК по регионам РФ ($n = 41$)

Центральный федеральный округ – 15 пациентов; Северо-Западный федеральный округ – 4; Южный федеральный округ – 2; Северо-Кавказский федеральный округ – 1; Приволжский федеральный округ – 11; Уральский федеральный округ – 3; Сибирский федеральный округ – 3; Дальневосточный федеральный округ – 2

Figure 1

Distribution of patients with PKD in the regions of the Russian Federation ($n = 41$)

Central – 15 patients; Northwestern – 4; Southern – 2; North Caucasian – 1; Volga – 11; Ural – 3; Siberian – 3; Far Eastern – 2



Всем пациентам проведено молекулярно-генетическое исследование методом высокопроизводительного секвенирования ДНК (NGS) на приборе NextSeq (Illumina, США) методом парно-концевого чтения (120×2) со средней глубиной прочтения не менее 100х и покрытием целевого региона 99% при глубине прочтения не менее 20х с использованием кастомной панели «Гемолитические анемии» (Roche, Швейцария), включающей 75 генов: *ABCB7*, *ADA*, *ADAMTS13*, *AK1*, *ALDOA*, *AMN*, *ANK1*, *BPGM*, *C15ORF41*, *C3*, *C3AR1*, *CASP10*, *CD46*, *CDAN1*, *CFB*, *CFH*, *CFI*, *CUBN*, *CYB5R3*, *DGKE*, *DHFR*, *EPB41*, *EPB42*, *FAS*, *FASLG*, *G6PD*, *GATA1*, *GCLC*, *GPI*, *GPX1*, *GSR*, *GSS*, *GYPA*, *GYPC*, *HBA1*, *HBA2*, *HBB*, *HBG1*, *HBG2*, *HFE*, *HK1*, *KCNN4*, *KIF23*, *KLF1*, *MTR*, *NT5C3A*, *PFKL*, *PFKM*, *PFKP*, *PGK1*, *PIEZO1*, *PIGA*, *PIGT*, *PKLR*, *PUS1*, *RHAG*, *SEC23B*, *SLC19A2*, *SLC25A38*, *SLC2A1*, *SLC40A1*, *SLC46A1*, *SLC4A1*, *SPTA1*, *SPTB*, *SRD5A3*, *TCN2*, *TF*, *TFR2*, *THBD*, *TMPRSS6*, *TPI1*, *UGT1A1*, *XK*, *YARS2* (названия генов даны в соответствии с HUGO Gene Nomenclature Committee). Для пробоподготовки была использована методика гибридационного селективного обогащения фрагментами ДНК, относящимися к кодирующим областям перечисленных генов. Для поиска протяженных делеций, включающих ген *PKLR* или его фрагменты, использовался MLPA-анализ. Родители

пациентов и совершеннолетние пациенты подписали добровольное информированное согласие на проведение молекулярно-генетического исследования.

Статистическая обработка результатов выполнена методами описательной статистики с применением прикладного пакета программ Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Данные анализировались на соответствие распределения значений изучаемого показателя закону нормального распределения (W-тест Шапиро-Уилка). Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (SD) для переменных с нормальным распределением и медиана (Me) (нижний квартиль; верхний квартиль) для переменных с распределением, отличным от нормального. Сравнение переменных между 2 группами пациентов проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинические данные

По результатам молекулярно-генетического исследования для анализа были отобраны данные 41 пациента с подтвержденным диагнозом: наследственная несфероцитарная гемолитическая анемия,

вызванная ДПК эритроцитов. Распределение по полу (мужской:женский) составило 1:1,73. Медиана возраста пациентов на момент настоящего исследования – 5 лет 1 месяц, минимальный возраст – 4 месяца, максимальный – 26 лет 6 месяцев.

Проведение хотя бы одной трансфузии эритроцитной взвеси потребовалось 40 (97,56%) пациентам; не проводились гемотрансфузии только 1 ребенку в возрасте 2 лет с концентрацией гемоглобина (Hb) 83–89 г/л. Минимальный возраст на момент дебюта трансфузионной зависимости – 1 сутки жизни, максимальный – 4 года. Заменное переливание крови (ЗПК) в раннем неонатальном периоде выполнено 13 (31,71%) пациентам. Тяжелая нормоцитарная гиперрегенераторная анемия, потребовавшая заместительной трансфузии эритроцитной взвеси, в первые месяцы жизни отмечена у 12 (29,27%) детей: на 1-м месяце жизни – у 9 (21,95%), на 2-м месяце – у 8 (19,51%); на 3-м месяце – у 6 (14,63%); на 5-м месяце – у 2 (4,88%); на 1-м году жизни (медицинская документация с точной датой первой трансфузии утеряна) – у 1 (2,44%) ребенка. У 2 (4,88%) детей заместительные трансфузии потребовались однократно за время наблюдения на фоне инфекционных эпизодов в 3 и 4 года.

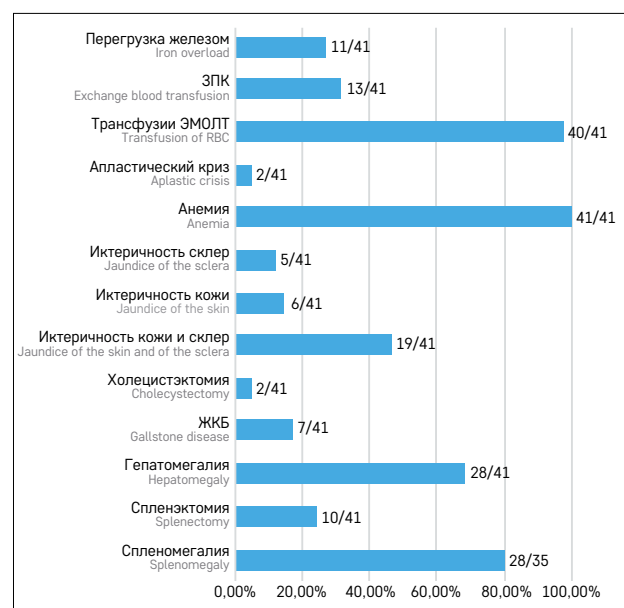
В клинической картине среди основных проявлений заболевания (рисунк 2) были: спленомегалия – у 28/35 (80%) пациентов; гепатомегалия – у 28/41 (68,29%); иктеричность кожи и склер – у 19/41 (46,34%); перегрузка железом – у 11/41 (26,83%); ЖКБ – у 7/41 (17,07%); иктеричность кожи – у 6/41 (14,63%); иктеричность склер – у 5/41 (12,2%).

Рисунок 2

Клиническая характеристика пациентов с ДПК
ЭМОЛТ – эритроцитная масса, обедненная лейкоцитами и тромбоцитами

Figure 2

Clinical characteristics of PKD patients
RBC – red blood cells



Спленэктомия была выполнена 10 (24,39%) пациентам. В связи с высокой трансфузионной зависимостью (ежемесячные трансфузии эритроцитной взвеси) оперативное вмешательство выполнено 9 детям, еще 1 пациенту операция проведена в связи с хронической гипербилирубинемией. У 4 пациентов до проведения хирургического вмешательства наблюдалась спленомегалия, данные о размерах селезенки до спленэктомии у 6 пациентов были недоступны. Медиана возраста проведения оперативного вмешательства ($n = 9$) составила 7 лет 4 месяца, минимальный возраст – 1 год 4 месяца, максимальный – 14 лет 4 месяца. Двум пациентам первоначально была выполнена эндоваскулярная окклюзия селезенки. Одному ребенку первоначально проведена эмболизация селезеночной артерии в возрасте 1 года, в 2 года 5 месяцев у этого пациента была отмечена выраженная гипертрофия оставшейся после окклюзии паренхимы селезенки, после чего в возрасте 6 лет 4 месяцев ему была выполнена спленэктомия. Второму ребенку оперативное вмешательство проводилось в 3 этапа: в 6 и 9 месяцев – окклюзия сосудов на 75% и 90% соответственно, в 1 год 2 месяца – окклюзия дополнительной артерии, в результате чего была достигнута трансфузионная независимость. Трансфузионная независимость после спленэктомии достигнута у 5 (50%) детей, при этом нормализация Hb с полной компенсацией гемолиза не произошла ни у одного пациента (Hb от 78 до 101 г/л, ретикулоцитоз 1,7–31,32%, при биохимическом исследовании сыворотки крови гипербилирубинемия составила 28,9–171,6 мкмоль/л). У 5 (50%) пациентов после спленэктомии было достигнуто увеличение интервала между гемотрансфузиями: у 1 ребенка в течение 5 лет после оперативного вмешательства выполнено 3 трансфузии эритроцитной взвеси по требованию, у 1 – увеличение интервала между трансфузиями до 2 мес, у 2 – до 3 мес, у 1 – до 4 мес. У 1 пациента в послеоперационном периоде отмечено осложнение в виде ятрогенного спленоза.

ЖКБ при обследовании обнаружена у 7 (17,07%) пациентов: в 2 случаях потребовалось проведение холецистэктомии, 5 детей получали консервативную терапию. Также у 11 (26,83%) больных отмечена вторичная перегрузка железом. Одна пациентка не получает хелаторную терапию в связи с индивидуальной непереносимостью деферазирокса. Хелаторную терапию деферазироксом в лекарственной форме таблетки диспергируемая получают 6 больных, в лекарственной форме таблетки, покрытая пленочной оболочкой, – 3 детей (2 пациентам смена лекарственной формы деферазирокса проведена в связи с плохой комплаентностью), у 1 пациента через 6 мес после начала терапии препарат временно отменен в связи с повышением активности

печеночных трансаминаз. Средний возраст начала хелаторной терапии составил $4,8 \pm 3,8$ года.

Среди сопутствующих заболеваний у пациентов описаны: синдром Жильбера – у 3 (7,32%) детей, болезнь Виллебранда – у 1 (2,44%), болезнь Крона – у 1 (2,44%), нейросенсорная тугоухость – у 1 (2,44%), расщелина губы, твердого и мягкого неба (оперативное вмешательство: хейлоринопластика первичная справа по Милларду) – у 1 (2,44%).

Таблица 1

Результаты лабораторного исследования у пациентов с ДПК ($n = 41$)

Table 1

Results of laboratory studies of patients with PKD ($n = 41$)

Параметр Indicator	Результаты Results	n
Общий анализ крови Routine blood test		
Нб, г/л Hb, g/l	$84,3 \pm 11,7$	41
Ретикулоциты, % Ret, %	$11,1 \pm 11,1$	40
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ RBC, $\times 10^{12}/l$	$2,8 \pm 0,5$	41
MCV, фл MCV, fl	$89,2 \pm 9,2$	37
MCH, пг MCH, pg	$30,1 \pm 2,6$	36
MCHC, г/л MCHC, g/l	$336,7 \pm 17,5$	35
Тромбоциты, $\times 10^9/л$ PLT, $\times 10^9/l$	$432,5 \pm 197,5$	41
Лейкоциты, $\times 10^9/л$ WBC, $\times 10^9/l$	$8,7 \pm 4,0$	41
Биохимический анализ крови Blood chemistry test		
Общий билирубин, мкмоль/л Total bilirubin, $\mu\text{mol}/l$	$79,7 \pm 60,8$	36
Прямой билирубин, мкмоль/л Conjugated bilirubin, $\mu\text{mol}/l$	$9,2 \pm 3,2$	33
Лактатдегидрогеназа, Ед/л Lactate dehydrogenase, U/l	$850,4 \pm 729,7$	35
Ферритин, мкг/л Ferritin, $\mu\text{g}/l$	$723,6 \pm 791,10$	37

Примечание. MCV – средний объем эритроцитов; MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците; MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците.

Note. RBC – red blood cells; MCV – mean corpuscular volume; MCH – mean concentration hemoglobin; MCHC – mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT – Platelets; WBC – white blood cell, Ret – reticulocytes.

Результаты лабораторного обследования пациентов с ДПК представлены в таблице 1.

До проведения молекулярно-генетического исследования, позволившего установить окончательный диагноз ДПК, 24 пациента наблюдались гематологами с диагнозом: неуточненная гемолитическая анемия, 6 – с диагнозом: врожденная дизэритропоэтическая анемия, 1 – с диагнозом: наследственный эллиптоцитоз и 1 – с диагнозом: наследственная гемолитическая анемия вследствие ДПК, верифицированного по оценке активности ПК эритроцитов. Кроме того, 9 человек наблюдались с диагнозом: наследственная сфероцитарная гемолитическая анемия (НСГА), 4 из них в целях снижения трансфузионной зависимости и гипербилирубинемии была проведена спленэктомия. В связи с отсутствием

эффекта от проведенного оперативного вмешательства после появления технической возможности было принято решение о проведении ДНК-диагностики для уточнения диагноза.

Учитывая неоднозначность результатов, получаемых при использовании стандартных методов диагностики наследственных гемолитических анемий, было проведено сравнение данных обследования пациентов с ДПК, выполнявших в рамках первичного обследования эритроцитометрию ($n = 24$) с расчетом среднего диаметра эритроцитов, индекса сферичности (ИС), с результатами обследования больных с НСГА ($n = 25$) (таблица 2). В анализ были включены результаты 24 пациентов с ДПК с первичными диагнозами: наследственный сфероцитоз ($n = 7$), неуточненная гемолитическая анемия ($n = 16$), врожденная дизэритропоэтическая анемия ($n = 1$). По результатам статистически значимых различий в количестве ретикулоцитов не выявлено ($p = 0,56$). У пациентов с ДПК MCV был выше, чем у пациентов с НСГА, при более низких значениях MCHC. У пациентов с НСГА по данным эритроцитометрии значимо ниже оказались средний диаметр эритроцита, ИС и количество сфероцитов в мазке. При этом обращает на себя внимание, что средние значения ИС для когорты пациентов с ДПК ниже нормальных показателей (3,4–3,9), что подтверждает необходи-

Таблица 2

Результаты обследования пациентов с ДПК и НСГА

Table 2

Results of examination of patients with PKD and hereditary spherocytosis hemolytic anemia (HSHA)

Показатель Index	ДПК ($n = 24$) PKD ($n = 24$)	НСГА ($n = 25$) HSHA ($n = 25$)	p
Общий анализ крови Routine blood test			
Нб, г/л Hb, g/l	$87,08 \pm 11,30$	$104,80 \pm 17,37$	$< 0,001$
Ретикулоциты, % Ret, %	$10,16 \pm 9,86$	$7,37 \pm 2,80$	0,560
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ RBC, $\times 10^{12}/l$	$2,96 \pm 0,52$	$3,68 \pm 0,52$	$< 0,001$
MCV, фл MCV, fl	$88,65 \pm 8,63$	$77,92 \pm 6,39$	$< 0,001$
MCH, пг MCH, pg	$30,13 \pm 2,33$	$28,28 \pm 2,81$	0,014
MCHC, г/л MCHC, g/l	$340,70 \pm 17,98$	$361,29 \pm 14,32$	$< 0,001$
Эритроцитометрия Erythrocytometry			
Средний диаметр эритроцита, мкм Average erythrocyte diameter, μm	$7,10 \pm 0,39$	$6,35 \pm 0,29$	$< 0,001$
ИС Spherocytosis index	$3,24 \pm 0,68$	$2,57 \pm 0,25$	$< 0,001$
Сфероциты, % Spherocytes, %	$1,01 \pm 1,09$	$16,01 \pm 10,57$	$< 0,001$
Пойкилоцитоз, % Poikilocytosis, %	$19,09 \pm 7,11$	$23,08 \pm 11,62$	0,312
Анизоцитоз, % Anisocytosis, %	$7,73 \pm 1,58$	$9,21 \pm 1,35$	0,002

мость комплексной оценки результатов обследования больных для верной постановки диагноза.

Анализ мутаций

Из 41 семьи детей с ДПК для обследования были доступны 16, в которых были обследованы 29 родителей пациентов, при этом в 13 семьях были доступны для анализа оба родителя пробанда, а в 3 – только один из родителей. По результатам анализа ДНК у 27 человек из 29 были обнаружены гетерозиготные мутации в гене *PKLR*.

Гомозиготные мутации в гене *PKLR* были обнаружены у 10 (24,39%) пациентов, компаунд-гетерозиготные мутации – у 31 (75,61%). Всего было проанализировано 72 мутации в гене *PKLR*, среди них большинство составили миссенс-мутации – 56 (77,78%), также описаны такие варианты, как мутации сайта сплайсинга – 7 (9,72%), нонсенс-мутации – 5 (6,94%), делеции без сдвига рамки считывания – 2 (2,78%), мутация со сдвигом рамки считывания – 1 (1,39%) и 1 (1,39%) крупная делеция.

Анализ распределения по кодирующим областям гена для уникальных мутаций выявил наиболее частую встречаемость мутаций в экзоне 8 – 8 мутаций, в экзоне 10 – 7 мутаций; в экзонах 7 и 9 – 5 мутаций; в экзоне 4 – 4 мутации; в экзонах 1, 5, 6 и 11 – 1 мутация; протяженная делеция экзонов 1–2 (рисунок 3). В экзонах 3 и 12 мутации не обнаружены.

Всего при обследовании было обнаружено 36 различных генотипов. Наиболее часто встречающимися среди них были: с.1529G>A/с.1529G>A ($n = 3$; 7,32%), с.1079G>A/с.1529G>A ($n = 2$; 4,88%), с.1130T>C/с.1456C>T ($n = 2$; 4,88%), с.1137_1139del/с.1456C>T ($n = 2$; 4,88%). Самыми частыми среди обнаруженных в гене *PKLR* мутаций стали: с.1456C>T ($n = 12$; 16,67%), с.1529G>A ($n = 12$; 16,67%), что соответствует международным данным, также часто встречались такие патогенные варианты, как с.101-1G>A ($n = 5$; 6,94%), с.1079G>A ($n = 4$; 5,56%), с.1130T>C ($n = 3$; 4,17%), с.1318G>T ($n = 3$; 4,17%), с.1137_1139del ($n = 2$; 2,78%), с.1436G>A ($n = 2$;

2,78%), с.1583A>T ($n = 2$; 2,78%), с.665G>A ($n = 2$; 2,78%), с.994G>A ($n = 2$; 2,78%).

Также был проведен анализ генотипов пациентов после спленэктомии. Среди трансфузионно независимых после оперативного вмешательства пациентов у 2 были идентифицированы компаунд-гетерозиготные миссенс-мутации (с.1021G>A/с.1456C>T; с.1223C>T/с.1529G>A), у 1 – гомозиготная миссенс-мутация (с.1529G>A), у 1 – миссенс-мутация (с.1529G>A) и вставка нуклеотида со сдвигом рамки считывания (с.415dupG), у 1 – миссенс-мутация (с.1456C>T) и делеция без сдвига рамки считывания (с.1137_1139del).

Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика группы пациентов с впервые выявленными вариантами в гене *PKLR*

У 19 (46,34%) из 41 пациента обнаружены не описанные ранее мутации гена *PKLR* (таблица 3): в 2 случаях они были выявлены в гомозиготном состоянии (с.1318G>A и с.1269+1G>A), в 1 случае – в компаунд-гетерозиготном состоянии (с.1583A>T/с.1510C>T), в остальных 16 случаях ранее не описанные варианты встретились в компаунд-гетерозиготном состоянии с ранее описанными вариантами. У всех больных анемия была нормохромной, нормоцитарной гиперрегенераторной. Четверем пациентам проведена спленэктомия: 3 ребенка (генотипы с.415dupG/с.1529G>A, с.1021G>A/с.1456C>T, с.1137_1139del/с.1456C>T) в дальнейшем оставались трансфузионно независимыми, несмотря на сохраняющуюся анемию до 78 г/л минимально; у 1 девочки (с.1130T>C/с.1318G>T) после операции отмечено увеличение интервала между трансфузиями с 4 нед до 4 мес. ЖКБ зафиксирована у 2 пациентов (с.415dupG/с.1529G>A, с.1021G>A/с.1456C>T), 1 из них проведена холецистэктомия. Вторичная перегрузка железом, потребовавшая хелаторной

Рисунок 3
Распределение уникальных мутаций по экзонам гена *PKLR*

Figure 3
Distribution of unique mutations by exons of the *PKLR* gene

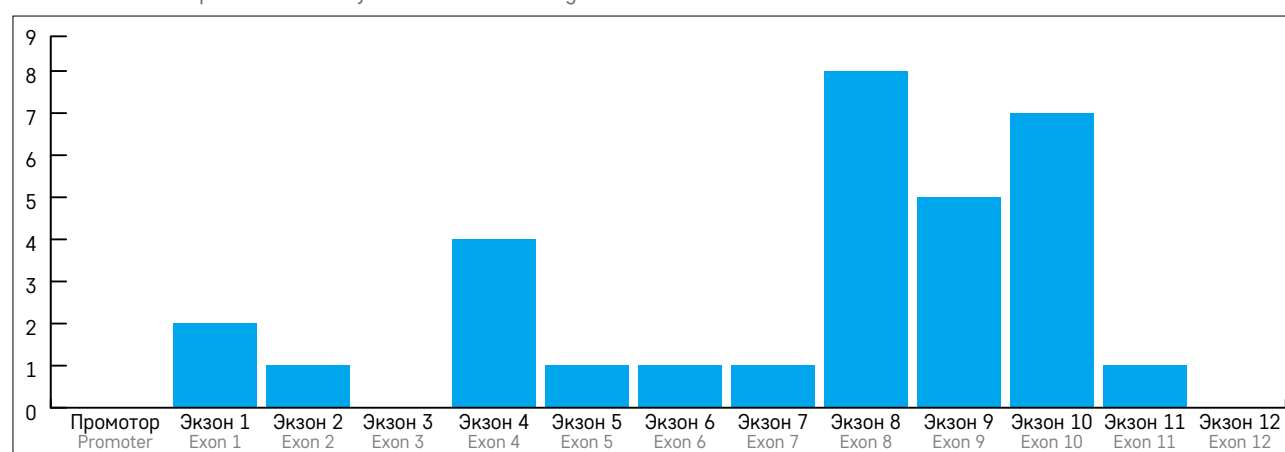


Таблица 3
Результаты молекулярно-генетического исследования

Table 3
Results of genetic research

№	Пациент, пол Patient, gender	Мутация Mutation	Экзон/ интрон Exon/ Intron	Тип мутации Mutation type	Примечание Note	Мутация Mutation	Экзон/ интрон Exon/ Intron	Тип мутации Mutation type	Примечание Note
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Б.М., мужской B.M., male	c.1079G>A (p.C360Y)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	[22]	c.1079G>A (p.C360Y)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	[22]
2	Г.У., женский G.U., female	c.1528C>T (p.R510Ter)	Экзон 10 Exon 10	Нонсенс Nonsense	[23]	c.1528C>T (p.R510Ter)	Экзон 10 Exon 10	Нонсенс Nonsense	[23]
3	Г.И., мужской G.I., male	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.1079G>A (p.C360Y)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	[22]
4	Д.Э., женский D.E., female	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
5	К.У., женский K.U., female	c.1637T>C (p.L546P)	Экзон 11 Exon 11	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
6	К.Д., мужской K.D., male	c.1594C>T (p.R532W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[25]	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
7	К.С., женский K.S., female	c.1429A>G (p.T477A)	Экзон 9 Exon 9	Миссенс Missense	[26]	c.665G>A (p.G222E)	Экзон 5 Exon 5	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered
8	К.Д., женский K.D., female	c.1130T>C (p.M377T)	Экзон 8 Exon 8	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
9	Л.М., женский L.M., female	c.1137_1139del (p.K380del)	Экзон 8 Exon 8	Делеция без сдвига рамки считывания Deletion	Впервые выявлена First discovered	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
10	М.А., мужской M.A., male	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.994G>A (p.G332S)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	[28]
11	П.Р., женский P.R., female	c.1583A>T (p.D528V)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1436G>A (p.R479H)	Экзон 9 Exon 9	Миссенс Missense	[27]
12	П.Е., мужской P.E., male	c.1318G>A (p.E440K)	Экзон 9 Exon 9	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1318G>A (p.E440K)	Экзон 9 Exon 9	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered
13	С.М., женский S.M., female	c.101-1G>A	Интрон 1 Intron 1	Сайт сплайсинга Splicing site	[25]	c.101-1G>A	Интрон 1 Intron 1	Сайт сплайсинга Splicing site	[25]
14	С.Д., мужской S.D., male	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.101-1G>A	Интрон 1 Intron 1	Сайт сплайсинга Splicing site	[25]
15	С.В., женский S.V., female	c.401T>A (p.V134D)	Экзон 4 Exon 4	Миссенс Missense	[24]	c.401T>A (p.V134D)	Экзон 4 Exon 4	Миссенс Missense	[24]
16	Т.М., женский T.M., female	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.1072G>T (p.G358W)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered
17	Я.М., женский Ya.M., female	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
18	Б.Т., мужской B.T., male	c.665G>A (p.G222E)	Экзон 5 Exon 5	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1318G>T (p.E440Ter)	Экзон 9 Exon 9	Нонсенс Nonsense	[30]
19	Б.А., женский B.A., female	c.1181C>T (p.A394V)	Экзон 8 Exon 8	Миссенс Missense	[26]	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
20	В.А., женский V.A., female	c.1130T>C (p.M377T)	Экзон 8 Exon 8	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1318G>T (p.E440Ter)	Экзон 9 Exon 9	Нонсенс Nonsense	[30]
21	К.А., мужской K.A., male	c.1174G>A (p.A392T)	Экзон 8 Exon 8	Миссенс Missense	[25]	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
22	К.Н., мужской K.N., male	c.101-1G>A	Интрон 1 Intron 1	Сайт сплайсинга Splicing site	[25]	c.787G>A (p.G263R)	Экзон 6 Exon 6	Миссенс Missense	[31]
23	М.Р., мужской M.R., male	c.394G>C (p.A132P)	Экзон 4 Exon 4	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
24	С.В., женский S.V., female	c.1436G>A (p.R479H)	Экзон 9 Exon 9	Миссенс Missense	[27]	c.487C>T (p.R163C)	Экзон 4 Exon 4	Миссенс Missense	[32]

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
25	X.P., женский H.R., female	c.1269+1G>A (p.?)	Инtron 8 Intron 8	Сайт сплайсинга Splicing site	Впервые выявлена First discovered	c.1269+1G>A (p.?)	Инtron 8 Intron 8	Сайт сплайсинга Splicing site	Впервые выявлена First discovered
26	T.T., мужской T.T., male	c.415dupG (p.E139fs*82)	Экзон 4 Exon 4	Сдвиг рамки считывания Frameshift mutation	Впервые выявлена First discovered	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
27	C.C., женский S.S., female	c.994G>A (p.G332S)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	[28]	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
28	Z.A., женский Z.A., female	c.1021G>A (p.G341S)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
29	H.K., женский N.K., female	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.1079G>A (p.C360Y)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	[22]
30	G.I., мужской G.I., male	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	Протяженная делеция, экзоны 1–2 Large deletion, exons 1–2			
31	M.A., женский M.A., female	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.1007C>T (p.A336V)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered
32	R.A., женский R.A., female	c.101-1G>A	Инtron 1 Intron 1	Сайт сплайсинга Splicing site	[25]	c.1318G>T (p.E440Ter)	Экзон 9 Exon 9	Нонсенс Nonsense	[30]
33	Z.A., женский Z.A., female	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.1223C>T (p.T408I)	Экзон 8 Exon 8	Миссенс Missense	[33]
34	M.E., мужской M.E., male	c.1462C>T (p.R488Ter)	Экзон 10 Exon 10	Нонсенс Nonsense	[26]	c.1462C>T (p.R488Ter)	Экзон 10 Exon 10	Нонсенс Nonsense	[26]
35	F.A., женский F.A., female	c.1583A>T (p.D528V)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1510C>T (p.R504C)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered
36	Z.E., мужской Z.E., male	c.1130T>C (p.M377T)	Экзон 8 Exon 8	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
37	S.N., женский S.N., female	c.101-1G>A	Инtron 1 Intron 1	Сайт сплайсинга Splicing site	[25]	c.1079G>A (p.C360Y)	Экзон 7 Exon 7	Миссенс Missense	[22]
38	S.A., женский S.A., female	c.1178A>G (p.Asn393S)	Экзон 8 Exon 8	Миссенс Missense	[29]	c.1436+5G>C (p.?)	Инtron 9 Intron 9	Сайт сплайсинга Splicing site	Впервые выявлена First discovered
39	Ch.K., женский Ch.K., female	c.1137_1139del (p.K380del)	Экзон 8 Exon 8	Делеция без сдвига рамки считывания Deletion	Впервые выявлена First discovered	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]
40	Ya.M., женский Ya.M., female	c.1456C>T (p.R486W)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.1157C>T (p.A386V)	Экзон 8 Exon 8	Миссенс Missense	Впервые выявлена First discovered
41	K.S., мужской K.S., male	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]	c.1529G>A (p.R510Q)	Экзон 10 Exon 10	Миссенс Missense	[24]

терапии, наблюдалась у 5 детей: у 1 пациентки с генотипом c.1637T>C/c.1529G>A в возрасте 10 лет при концентрации ферритина сыворотки крови 468,2 мкг/л по результатам магнитно-резонансной томографии в режиме T2* – перегрузка печени III степени (LIC 7,9 мг Fe/г с.в.), перегрузки миокарда не обнаружено; у 1 пациентки с генотипом c.1583A>T/c.1436G>A в возрасте 1 года; у 1 пациентки (c.1130T>C/c.1318G>T) в 7 лет; у 1 пациентки (c.1269+1G>A/c.1269+1G>A) в 1,5 года, однако в связи с печеночной токсичностью через 6 мес терапия отменена; у 1 пациента (c.415dupG/c.1529G>A) терапия проводилась с 12 лет в течение 1 года. Клиническая характеристика больных, имеющих не описанные ранее мутации, представлена в таблице 4.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

На территории РФ среди пациентов с ДПК, проанализированных в данной работе, заболевание чаще встречается у девочек (соотношение мальчики:девочки – 1:1,73). Хотя бы одну трансфузию в течение жизни получили 40 (97,56%) больных, при этом на первом году жизни – 38 (92,68%) детей. Отмечена невысокая эффективность спленэктомии: даже при достижении трансфузионной независимости сохраняется анемия I–II степени тяжести с ретикулоцитозом, гипербилирубинемией.

На сегодняшний день в гене *PKLR* описано более 300 мутаций, большую часть которых состав-

Таблица 4
Клинические проявления заболевания у пациентов с впервые выявленными мутациями в гене *PKLR*
Table 4
Clinical manifestations of the disease in patients with newly diagnosed mutations in the *PKLR* gene

Клинические данные Clinical data															Общий анализ крови Routine blood test				Биохимический анализ крови Blood chemistry test			Результаты обследо- вания родителей Parent results
№	Возраст Age	Возраст первой трансфу- зии Age of first transfusion	Интервал между трансфузи- ями The interval between transfusions	Гепатоспленомегалия Hepatosplenomegaly		ЖКБ Gallstone disease	Спленэктомия Splenectomy		Нб, г/л Hb, g/l	Ре- ти- ку- ло- ци- ты, % RBC, % Ret, %	Эри- тро- ци- ты, x 10 ¹² /л RBC, x 10 ¹² /l	Тром- боци- ты, x 10 ⁹ /л PLT, x 10 ⁹ /l	Лей- коци- ты, x 10 ⁹ /л WBC, x 10 ⁹ /l	Общий билиру- бин, мк- моль/л Total bilirubin, μmol / l	Прямой билиру- бин, мк- моль/л Conju- gated bilirubin, μmol/l	Фер- ритин, мкг/л Ferritin, μg/l						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17						
5	10 лет 10 years	1 сутки 1 day	1 год: 4 нед 1–4 года: 6 мес с 4 лет: 2 мес 1 year: 4 weeks 1–4 years: 6 months from 4 years: 2 months	+ 4,0	+ 4,0	–	–	76	19,3	2,49	295	5,93	142,1	7,7	468,2	Отец: c.1637T>C het Мать: c.1529G>A het Father: c.1637T>C het Mother: c.1529G>A het						
7	8 лет 8 years	3 года 3 years	Однократно Once	–	–	–	–	97	6,0	3,01	258	4,51	44,1	9,7	121,5	Отец: c.665G>A het Мать: c.1429A>G het Father: c.665G>A het Mother: c.1429A>G het						
8	1 год 1 year	1,5 месяца 1.5 months	3 трансфузии до 4,5 мес 3 transfusions up to 4.5 months	–	Край The edge	–	–	90	9,8	3,2	318	5,25	103,4	6,9	423,87	Отец: c.1456C>T het Мать: c.1130T>C het Father: c.1456C>T het Mother: c.1130T>C het						
9	1 год 1 year	1 месяц 1 months	4 нед до 6 мес 4 weeks up to 6 months	+ 3,0	–	–	–	87	5,9	2,84	541	5,55	46	10,9	415	Н. д. Not performed						
11	8 лет 8 years	ЗПК, 3 месяца Exchange blood transfusion, 3 months	3–4 нед 3–4 weeks	+ 1,5	+ 5,0	–	–	100	2,5	3,57	271	7,87	122,9	16	1514,8	Отец: c.1583A>T het Мать: c.1436G>A het Father: c.1583A>T het Mother: c.1436G>A het						
12	5 лет 5 years	на 1-й неделе 1 week	6 трансфузий 6 transfusions	+ 1,5	+ 1,5	–	–	81	17,2	2,83	293	6,43	110,5	13,18	61,7	Отец и мать: c.1318G>A het Father and mother: c.1318G>A het						
16	9 лет 9 years	на 1-й неделе 1 week	3–4 мес до 3 лет 3–4 months up to 3 years	+ 1,5	+ 4,5	–	–	70	17,9	2,48	497	6,76	56,6	7,9	35,8	Н. д. Not performed						

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
18	3 года 3 years	на 1-й неделе 1 week	3 мес 3 months	+ 5,0	+ 3,0	–	–	54	3,6	2,11	216	8,75	33,4	5,5	637	Н. д. Not performed
20	8 лет 8 years	ЗПК, 2 месяца Exchange blood transfusion, 2 months	4 нед 4 weeks	–	–	–	7 лет 1 месяц 7 years 1 months	85	34,9	2,61	387	15,55	103,4	8,6	1855,1	Н. д. Not performed
23	5 месяцев 5 months	ЗПК, 1 месяц Exchange blood transfusion, 1 month	4 нед 4 weeks	+ 2,0	–	–	–	75	7,5	2,6	297	7,2	29,4	11,4	568	Н. д. Not performed
25	1 год 1 year	ЗПК, 2 месяца Exchange blood transfusion, 2 months	4 нед 4 weeks	–	+ 1,0	–	–	62	4,3	2,2	436	13,53	57,8	6,1	1701	Отец и мать: с.1269+1G>A het Father and mother: с.1269+1G>A het
26	13 лет 13 years	1 месяц 1 month	4 нед 4 weeks	+ 1,0	–	+	1 год 4 месяца 1 year 4 months	78	1,7	2,5	738	7,6			1000	Н. д. Not performed
28	13 лет 13 years	3 месяца 3 months	4 нед 4 weeks	–	–	+	1 год: окклюзия, 6 лет 4 месяца: удаление 1 year: occlusion, 6 years 4 months: removal	96	11,4	2,72	876	9	171,6	4,21	292,3	Н. д. Not performed
31	6 месяцев 6 months	ЗПК, 5 месяцев Exchange blood transfusion, 5 months	8 нед 8 weeks	Край The edge	Край The edge	–	–	78	3,2	4,24	473	8,76	62,11		402,4	Н. д. Not performed
35	5 лет 5 years	4 года 4 years	Однократно Once	–	–	–	–	101	4,3	3,28	376	6,16	82	8,95	108	Н. д. Not performed
36	6 месяцев 6 months	2 месяца 2 months	2 мес 2 months	+ 1,5	–	–	–	73	7,1	2,75	471	7,5	36,3	10,7	474,1	Н. д. Not performed
38	8 лет 8 years	2,5 месяца 2.5 months	2–3 мес 2–3 months	+ 3,5	+ 5,0	–	–	91	5,3	3,06	222	6,57	112,7	8	695	Н. д. Not performed
39	10 лет 10 years	1 сутки 1 day	4 нед 4 weeks	–	–	–	2 года 7 месяцев 2 years 7 months	101	5,3	3,15	667	17,88	28,9			Н. д. Not performed
40	8 месяцев 8 months	1 месяц 1 month	4–6 нед 4–6 weeks	+ 2,0	+ 1,0	–	–	77	9,1	2,74	593	12,48	48,2	10,2		Н. д. Not performed

Примечание. Н. д. – нет данных, исследование не проводили.

ляют миссенс-мутации, однако также описаны нонсенс-мутации, делеции участков гена и протяженные делеции, мутации сдвига рамки считывания и мутации сайта сплайсинга. В рассмотренной нами группе у 46,34% пациентов выявлены не описанные ранее как патогенные генетические варианты, что превышает порог в 25% новых мутаций в популяции, согласно опубликованным международным данным [11]. В экзонах 3 и 12 мутации обнаружены не были, однако, согласно международным данным, в этих областях также возможно наличие патогенных вариантов [12]. На сегодняшний день, учитывая гетерогенность обнаруженных мутаций и небольшую выборку пациентов, проследить взаимосвязь генотипа с наиболее характерными клиническими проявлениями, а также тяжестью течения заболевания не представляется возможным.

До появления возможности проведения молекулярно-генетического исследования методом NGS пациентам с данной нозологической формой в РФ диагноз не мог быть верифицирован. Часть пациентов наблюдались по месту жительства с неуточненной наследственной гемолитической анемией, другим была установлена НСГА с последующим проведением脾эктомии, что не имело достаточной эффективности в случае ДПК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая отсутствие патогномоничных признаков для наследственной несфероцитарной гемолитической анемии вследствие ДПК эритроцитов, а также риск проведения калечащих оперативных вмешательств при неверно установленном диагнозе, необходимо рассмотреть вопрос об обязательном проведении молекулярно-генетического исследования пациентам при планировании оперативного вмешательства, если точный диагноз не был установлен по результатам рутинных лабораторных тестов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Cherniak E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3852-9634>
Sokolova N.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1021-7348>
Semiglazova K.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8148-6310>
Mann S.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1014-5196>
Kurnikova M.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0900-6874>
Raykina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>
Smetanina N.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2756-7325>

Литература

- Zanella A., Fermo E., Bianchi P., Valentini G. Red cell pyruvate kinase deficiency: molecular and clinical aspects. *Br J Haematol* 2005; 130 (1): 11–25. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05527.x
- Quintana-Bustamante O., Fañanas-Baquero S., Orman I., Torres R., Duchateau P., Poirot L., et al. Gene editing of *PKLR* gene in human hematopoietic progenitors through 5' and 3' UTR modified TALEN mRNA. *PLoS One* 2019; 14 (10): e0223775. DOI: 10.1371/journal.pone.0223775
- Bianchi P., Fermo E., Glader B., Kanno H., Agarwal A., Barcellini W., et al.; with the endorsement of EuroBloodNet, the European Reference Network in Rare Hematological Diseases. Addressing the diagnostic gaps in pyruvate kinase deficiency: Consensus recommendations on the diagnosis of pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol* 2019; 94 (1): 149–61. DOI: 10.1002/ajh.25325
- Valentine W.N., Tanaka K.R., Miwa S. A specific erythrocyte glycolytic enzyme defect (pyruvate kinase) in three subjects with congenital non-spherocytic hemolytic anemia. *Trans Assoc Am Physicians* 1961; 74: 100–10.
- Neubauer B., Lakomek M., Winkler H., Parke M., Hofferbert S., Schröter W. Point mutations in the L-type pyruvate kinase gene of two children with hemolytic anemia caused by pyruvate kinase deficiency. *Blood* 1991; 77 (9): 1871–5.
- Kanno H., Fujii H., Hirono A., Miwa S. cDNA cloning of human R-type pyruvate kinase and identification of a single amino acid substitution (Thr384→Met) affecting enzymatic stability in a pyruvate kinase variant (PK Tokyo) associated with hereditary hemolytic anemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88 (18): 8218–21.
- Grace R.F., Cohen J., Egan S., Wells T., Witherspoon B., Ryan A., et al. The burden of disease in pyruvate kinase deficiency: Patients' perception of the impact on health-related quality of life. *Eur J Haematol* 2018; 101 (6): 758–65. PMID: 29935049. DOI: 10.1111/ejh.13128
- Nathan D.G., Oski F.A., Miller D.R. Lifespan and organ sequestration of the red cells in pyruvate kinase deficiency. *N Engl J Med* 1968; 278 (2): 73–81. DOI: 10.1056/NEJM196801112780203
- [Электронный ресурс] Доступно по: <https://databases.lovd.nl/shared/genes.PKLR>. Ссылка активна на 15.04.2021.
- Bianchi P., Fermo E., Lezon-Geyda K., van Beers E.J., Morton H.D., Barcellini W., et al. Genotype-phenotype correlation and molecular heterogeneity in pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol* 2020; 95 (5): 472–82. DOI: 10.1002/ajh.25753
- Grace R.F., Glader B. Red Blood Cell Enzyme Disorders. *Pediatr Clin North Am* 2018; 65 (3): 579–95. PMID: 29803284. DOI: 10.1016/j.pcl.2018.02.005

12. Bianchi P., Fermo E. Molecular heterogeneity of pyruvate kinase deficiency. *Haematologica* 2020; 105 (9): 2218–28. DOI: 10.3324/haematol.2019.241141
13. [Электронный ресурс] Доступно по: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=PKLR>. Ссылка активна на 15.04.2021.
14. Canu G., De Bonis M., Minucci A., Capoluongo E. Red blood cell PK deficiency: An update of PK-LR gene mutation database. *Blood Cells Mol Dis* 2016; 57: 100–9. DOI: 10.1016/j.bcmd.2015.12.009
15. Grace R.F., Zanella A., Neufeld E.J., Morton D.H., Eber S., Yaish H., Glader B. Erythrocyte pyruvate kinase deficiency: 2015 status report. *Am J Hematol* 2015; 90 (9): 825–30. PMID: 26087744. DOI: 10.1002/ajh.24088
16. Montllor L., Mañú-Pereira M.D., Llaudet-Planas E., Gómez Ramírez P., Sevilla Navarro J., Vives-Corrons J.L. Red cell pyruvate kinase deficiency in Spain: A study of 15 cases. *Med Clin (Barc)* 2017; 148 (1): 23–7. PMID: 27871768. DOI: 10.1016/j.medcli.2016.10.004
17. Svidnicki M.C.C.M., Santos A., Fernandez J.A.A., Yokoyama A.P.H., Magalhães I.Q., Pinheiro V.R.P., et al. Novel mutations associated with pyruvate kinase deficiency in Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2018; 40 (1): 5–11. PMID: 29519373. DOI: 10.1016/j.bjhh.2017.08.007
18. Christensen R.D., Yaish H.M., Nussenzeig R.H., Agarwal A.M. Siblings with severe pyruvate kinase deficiency and a complex genotype. *Am J Med Genet A* 2016; 170 (9): 2449–52. PMID: 27354418. DOI: 10.1002/ajmg.a.37828
19. Zanella A., Fermo E., Bianchi P., Chiarelli L.R., Valentini G. Pyruvate kinase deficiency: the genotype-phenotype association. *Blood Rev* 2007; 21 (4): 217–31. Epub 2007 Mar 13. PMID: 17360088. DOI: 10.1016/j.blre.2007.01.001
20. Grace R.F., Mark Layton D., Barcellini W. How we manage patients with pyruvate kinase deficiency. *Br J Haematol* 2019; 184 (5): 721–34. DOI: 10.1111/bjh.15758
21. Chartier M.E., Hart L., Paganelli M., Ahmed N., Bilodeau M., Alvarez F. Successful Liver Transplants for Liver Failure Associated With Pyruvate Kinase Deficiency. *Pediatrics* 2018; 141 (Suppl 5): S385–9. PMID: 29610156. DOI: 10.1542/peds.2016-3896
22. Pissard S., Max-Audit I., Skopinski L., Vasson A., Vivien P., Bimet C., et al. Pyruvate kinase deficiency in France: a 3-year study reveals 27 new mutations. *Br J Haematol* 2006; 133 (6): 683–9. PMID: 16704447. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2006.06076.x
23. Demina A., Varughese K.I., Barbot J., Forman L., Beutler E. Six previously undescribed pyruvate kinase mutations causing enzyme deficiency. *Blood* 1998; 92 (2): 647–52. PMID: 9657767.
24. Baronciani L., Beutler E. Analysis of pyruvate kinase-deficiency mutations that produce nonspherocytic hemolytic anemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90 (9): 4324–7. DOI: 10.1073/pnas.90.9.4324
25. Lenzner C., Nürnberg P., Thiele B.J., Reis A., Brabec V., Sakalova A., Jacobasch G. Mutations in the pyruvate kinase L gene in patients with hereditary hemolytic anemia. *Blood* 1994; 83 (10): 2817–22. PMID: 8180378.
26. Baronciani L., Bianchi P., Zanella A. Hematologically important mutations: red cell pyruvate kinase (2nd update). *Blood Cells Mol Dis* 1998; 24 (3): 273–9. PMID: 10087985. DOI: 10.1006/bcmd.1998.0193
27. Kedar P., Hamada T., Warang P., Nadkarni A., Shimizu K., Fujii H., et al. Spectrum of novel mutations in the human *PKLR* gene in pyruvate kinase-deficient Indian patients with heterogeneous clinical phenotypes. *Clin Genet* 2009; 75 (2): 157–62. Epub 2008 Aug 28. PMID: 18759866. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2008.01079.x
28. Valentini G., Chiarelli L.R., Fortin R., Dolzan M., Galizzi A., Abraham D.J., et al. Structure and function of human erythrocyte pyruvate kinase. Molecular basis of nonspherocytic hemolytic anemia. *J Biol Chem* 2002; 277 (26): 23807–14. Epub 2002 Apr 17. PMID: 11960989. DOI: 10.1074/jbc.M202107200
29. Baronciani L., Beutler E. Molecular study of pyruvate kinase deficient patients with hereditary nonspherocytic hemolytic anemia. *J Clin Invest* 1995; 95 (4): 1702–9. PMID: 7706479; PMCID: PMC295683. DOI: 10.1172/JCI117846
30. Sedano I.B., Röthlisberger B., Délèze G., Ottiger C., Panchard M.A., Spahr A., et al. PK Aarau: first homozygous nonsense mutation causing pyruvate kinase deficiency. *Br J Haematol* 2004; 127 (3): 364–6. PMID: 15491302. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05209.x
31. Lenzner C., Nürnberg P., Jacobasch G., Gerth C., Thiele B.J. Molecular analysis of 29 pyruvate kinase-deficient patients from central Europe with hereditary hemolytic anemia. *Blood* 1997; 89 (5): 1793–9. PMID: 9057665.
32. Rajith B., George Priya Doss C. Path to facilitate the prediction of functional amino acid substitutions in red blood cell disorders—a computational approach. *PLoS One* 2011; 6 (9): e24607. Epub 2011 Sep 13. PMID: 21931771; PMCID: PMC3172254. DOI: 10.1371/journal.pone.0024607
33. Zarza R., Alvarez R., Pujades A., Nomdedeu B., Carrera A., Estella J., et al. Molecular characterization of the PK-LR gene in pyruvate kinase deficient Spanish patients. Red Cell Pathology Group of the Spanish Society of Haematology (AEHH). *Br J Haematol* 1998; 103 (2): 377–82. PMID: 9827908. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1998.01013.x

10.24287/1726-1708-2021-20-2-97-110

Гиподиплоидный кариотип при острых лимфобластных лейкозах из В-линейных предшественников у детей

Ю.В. Ольшанская, О.И. Солдаткина, Е.Н. Никитин, Н.М. Тимофеева, А.Н. Казакова, О.И. Быданов, Л.И. Жарикова, А.М. Попов, А.А. Червова, С.Н. Лагойко, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Румянцева, А.И. Карачунский

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Выявление генетических маркеров неблагоприятного прогноза имеет принципиальное значение для выбора тактики терапии острых лимфобластных лейкозов из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ). Гиподиплоидный кариотип при ВП-ОЛЛ имеет крайне неблагоприятное значение и является критерием стратификации пациентов в группу высокого риска. Несмотря на это, показатели выживаемости пациентов с гиподиплоидным кариотипом остаются невысокими. В отечественных протоколах терапии острых лимфобластных лейкозов у детей гиподиплоидный кариотип не входит в критерии стратификации пациентов на группы риска. С целью определить прогностическое значение и клинические характеристики ВП-ОЛЛ с гиподиплоидным кариотипом нами были проанализированы показатели выживаемости 2700 пациентов, включенных в многоцентровое исследование. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Всем больным было проведено исследование методами кариотипирования и флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). У 27 пациентов был выявлен гиподиплоидный кариотип. У 18 из 27 больных имел место гиподиплоидный клон по данным кариотипирования, у 2 – удвоение околгаплоидного клона по данным кариотипирования и FISH, у 7 пациентов с нормальным кариотипом или отсутствием митозов гиподиплоидия была установлена только на основании результатов исследования методом FISH. Для ВП-ОЛЛ с гиподиплоидией характерно повышенное число лейкоцитов в дебюте заболевания. Медиана количества лейкоцитов составила $24,2 (3,4-206,0) \times 10^9/\text{л}$ против $10,3 (0,2-1290,0) \times 10^9/\text{л}$ в контрольной группе. Число пациентов с инициальным лейкоцитозом менее $30 \times 10^9/\text{л}$ было достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,0062$). Ремиссия была достигнута у 26 из 27 больных. Бессобытийная выживаемость пациентов с гиподиплоидией была существенно ниже, чем в группе больных без гиподиплоидии: $50 \pm 11\%$ против $72 \pm 8\%$ ($p < 0,0001$). Общая выживаемость составила $64 \pm 10\%$ и $90 \pm 1\%$ соответственно ($p < 0,0001$). Кумулятивная вероятность развития рецидива при гиподиплоидном кариотипе составила $42,6 \pm 10,9\%$ против $22,3 \pm 8,1\%$ в контрольной группе ($p < 0,0001$). Пациенты, получавшие более интенсивную терапию согласно группам промежуточного и высокого риска, имели более высокие показатели выживаемости, нежели больные из группы стандартного риска: $62 \pm 13\%$ против $40 \pm 15\%$ ($p = 0,59$), кумулятивная вероятность развития рецидива в зависимости от группы риска составила $26,4 \pm 12,1\%$ и $60 \pm 16,9\%$ соответственно ($p = 0,19$). Наибольший риск развития рецидива наблюдался в группе, объединяющей пациентов с околгаплоидным набором хромосом и низкой гиподиплоидией (26–39 хромосом; $52,9 \pm 14,4\%$), бессобытийная выживаемость в этой группе составила $36 \pm 13\%$. Результаты терапии пациентов с ВП-ОЛЛ и гиподиплоидией по отечественному протоколу оказались сравнимы с общемировыми. Пациенты с ВП-ОЛЛ и гиподиплоидией изначально должны быть стратифицированы на наиболее интенсивную ветвь терапии. Для выявления гиподиплоидии обязательно выполнение стандартного кариотипирования, при необходимости дополняемого исследованием методом FISH.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, гиподиплоидный кариотип, хромосомы, дети, прогноз

Ольшанская Ю.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 97–110. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-97-110

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 16.02.2021

Принята к печати 12.03.2021

Контактная информация:

Ольшанская Юлия Вячеславовна, канд. мед. наук, заведующая лабораторией цитогенетики и молекулярной генетики ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: yuliashanskaya@gmail.com

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 16.02.2021

Accepted 12.03.2021

A hypodiploid karyotype in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia

Yu.V. Olshanskaya, O.I. Soldatkina, E.N. Nikitin, N.M. Timofeyeva, A.N. Kazakova, O.I. Bydanov, L.I. Zharikova, A.M. Popov, A.A. Chervova, S.N. Lagoyko, E.A. Zerkalenkova, Yu.V. Rumiyanseva, A.I. Karachunskiy

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Yuliya V. Olshanskaya,
cand. med. sci., Head of the Laboratory
of Cytogenetics and Molecular Genetics,
Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology, Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samoy Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: yuliaolshanskaya@gmail.com

The detection of genetic markers associated with poor prognosis is crucial to the selection of an appropriate treatment plan for B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL). A hypodiploid karyotype in patients with BCP-ALL has an unfavorable impact and serves as a criterion for the stratification of patients into a high-risk group. However, the survival rates of patients with a hypodiploid karyotype remain poor. Russian treatment protocols for childhood acute lymphoblastic leukemia do not include a hypodiploid karyotype in risk stratification criteria. In order to determine the prognostic value of a hypodiploid karyotype and the clinical characteristics of BCP-ALL in patients with a hypodiploid karyotype, we analyzed the survival rates of 2,700 patients included in a multicenter study. Our study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the D. Rogachev NMRCPhOI of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. All patients underwent karyotyping and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) testing. A hypodiploid karyotype was detected in 27 patients. Eighteen out of 27 patients had a hypodiploid clone (according to karyotyping results), 2 patients had a doubled near-haploid clone (according to karyotyping and FISH results); in 7 patients with a normal karyotype or in the absence of mitosis, hypodiploidy was determined only by FISH test. BCP-ALL with hypodiploidy is usually associated with increased WBC count at disease onset. The median WBC count in the study group was $24.2 (3.4-206.0) \times 10^9/l$ vs $10.3 (0.2-1290.0) \times 10^9/l$ in the control group. The number of patients with initial leukocytosis $< 30 \times 10^9/l$ in the study group was significantly lower than in the control group ($p < 0.062$). Remission was achieved in 26/27 patients. The event-free survival rates in patients with hypodiploidy were significantly lower than in those without hypodiploidy: $50 \pm 11\%$ vs $72 \pm 8\%$ ($p < 0.0001$). The overall survival was $64 \pm 10\%$ and $90 \pm 1\%$, respectively ($p < 0.0001$). The cumulative incidence of relapse in patients with a hypodiploid karyotype was higher ($42.6 \pm 10.9\%$) than in the controls ($22.3 \pm 8.1\%$) ($p < 0.0001$). The patients who received more intense treatment for intermediate- and high-risk groups showed better survival rates than those in the standard-risk group: $62 \pm 13\%$ vs $40 \pm 15\%$ ($p = 0.59$); the cumulative incidence of relapse according to the risk group was $26.4 \pm 12.1\%$ and $60 \pm 16.9\%$, respectively ($p = 0.19$). The highest risk of relapse was observed in a group that included patients with near-haploidy and low hypodiploidy (26–39 chromosomes; $52.9 \pm 14.4\%$). The event-free survival in this group was $36 \pm 13\%$. The results of treatment of patients with BCP-ALL and hypodiploidy according to the national guidelines turned out to be comparable to the international ones. Patients with BCP-ALL and hypodiploidy should be initially stratified to the most intense treatment arm. In order to identify patients with hypodiploidy, standard karyotyping is required; where needed, it can be supplemented by FISH analysis.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, hypodiploid karyotype, chromosomes, children, prognosis

Olshanskaya Yu.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 97–110.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-97-110

В настоящее время в развитых странах общая выживаемость (OS) детей с острыми лимфобластными лейкозами из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) достигает 85–95%. Это стало возможным благодаря аккуратной стратификации пациентов на группы риска на основе выделения генетических маркеров неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания и результатов мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ), совершенствованию химиотерапии и своевременной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Тем не менее для нескольких генетических вариантов ВП-ОЛЛ результаты терапии остаются неудовлетворительными, в первую очередь за счет высокой частоты развития рецидивов, как правило, инкурабельных. К неблагоприятным генетическим вариантам сегодня относят ВП-ОЛЛ с $t(9;22)(q34;q22)/BCR-ABL1$, перестройками гена $KMT2A$, с гиподиплоидным кариотипом (44 хромосомы и менее), с очень редкой, но крайне неблагоприятной перестройкой $t(17;19)(q22;p13)/E2A-HLF$, с внутривхромосомной амплификацией длинного плеча хромосомы 21 (iAMP21), BCR/ABL1-подобные лейкозы, ВП-ОЛЛ с делециями гена $IKZF1$ в сочетании с делециями других ключевых генов и ряд других редко встречающихся перестроек ($MDF2$, $PAX5$). Для некоторых из этих генетических вариантов применяются новые персонализированные подходы к терапии, такие

как назначение ингибиторов тирозинкиназ, иммунотерапии и ингибиторов протеасом в дополнение к традиционным схемам терапии. Мониторинг МОБ также является неотъемлемой частью современной терапии острого лимфобластного лейкоза, необходимой в первую очередь для принятия решения об интенсификации лечения и проведении ТГСК.

При ВП-ОЛЛ с гиподиплоидным кариотипом бессобытийная выживаемость (EFS), несмотря на применение ТГСК и активное использование результатов определения МОБ, не превышает 60% [1, 2]. В западноевропейских и североамериканских протоколах лечения пациентов с ВП-ОЛЛ с гиподиплоидным набором хромосом уже в момент диагностики заболевания однозначно стратифицируют в группу высокого риска. ВП-ОЛЛ с гиподиплоидным кариотипом представляет собой гетерогенную группу заболеваний с различным числом хромосом, набором мутаций и патогенетических механизмов и, как результат, различными, но весьма низкими показателями выживаемости. Исторически на основании данных кариотипирования выделяют три подгруппы: «высокая гиподиплоидия» (“high hypodiploidy”) – число хромосом 40–44 (в разных публикациях имеют место незначительные отличия: 40–43 или 42–44); «низкая гиподиплоидия» – число хромосом 31–39 (или 33–39) и случаи с окологаплоидным набором хромосом – 25–30 (или 25–32) [3–7]. В настоящее время паци-

ентов с 44 хромосомами часто исключают из анализа результатов терапии, так как EFS в этой подгруппе существенно выше, чем у больных с 43 хромосомами и менее (75% против 55,1% соответственно) [2].

Широко применяющийся в Российской Федерации (РФ) протокол лечения детей с острыми лимфобластными лейкозами группы «Москва–Берлин» не предусматривает выделения ВП-ОЛЛ с гиподиплоидией в группу высокого риска. Целью данного исследования является необходимость оценить результаты терапии в этой группе пациентов и, возможно, изменить их стратификацию в будущем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Пациенты

Критериями включения пациентов в исследование были: диагноз ВП-ОЛЛ, возраст от 1 года до 18 лет включительно, время регистрации в мультицентровом исследовании острых лимфобластных лейкозов у детей «Москва–Берлин» с 01.01.2010 по 01.01.2019, цитогенетический анализ материала в лаборатории цитогенетики и молекулярной генетики НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 01.01.2010 по 01.01.2019, терапия в рамках мультицентрового исследования острых лимфобластных лейкозов у детей «Москва–Берлин» (протоколы ALL-MB2008 и ALL-MB2015) в различных клиниках РФ.

Диагноз ВП-ОЛЛ устанавливали на основании стандартных морфологических и цитохимических критериев и данных иммунофенотипирования согласно критериям группы EGIL [8–10].

Цитогенетическое исследование

Кариотипирование клеток костного мозга проводили после краткосрочного культивирования согласно общепринятым методикам [11]. Исследование методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с коммерческими ДНК-зондами для выявления химерных генов *ETV6-RUNX1*, *BCR-ABL1*, *E2A-PBX1*, перестроек генов *KMT2A*, *E2A*, к центромерам хромосом 4, 7, 10, 17 проводили последовательно, опираясь на данные кариотипирования. Гибридизацию проводили согласно инструкциям фирм-производителей. Все цитогенетические данные описывали в соответствии с критериями Международной цитогенетической номенклатуры ISCN 2016 [12].

Гиподиплоидным считали кариотип с числом хромосом менее 45 и в отсутствие характерных

перестроек: *t(12;21)(p13;q21)/ETV6-RUNX1*, *t(9;22)(q34;q22)/BCR-ABL1*, *t(1;19)(q23;p13)/E2A-PBX1*, *t(17;19)(q22;p13)/E2A-HLF*, *t(4;11)(q13;q23)/KMT2A-AFF1*, других перестроек гена *KMT2A*, внутривхромосомной амплификации гена *RUNX1* (*iAMP21*). При отсутствии митозов гиподиплоидный кариотип устанавливали на основании результатов исследования методом FISH. Наличие одного сигнала от изучаемых локусов при исследовании стратифицирующих транслокаций рассматривалось как моносомия по данной паре хромосом. Дополнительно проводилось исследование с ДНК-зондами к центромерам хромосом 4, 7, 10, 17.

В группу сравнения выживаемости и клинических характеристик вошли пациенты с ВП-ОЛЛ без гиподиплоидного кариотипа.

Статистика

При сравнении групп пациентов по категориальным признакам использовали критерий χ^2 или критерий Фишера. Для анализа количественных данных применяли критерии Манна–Уитни–Уилкоксона и Колмогорова–Смирнова. Анализ выживаемости проводили по методу Каплана–Майера [13], для сравнения кривых выживаемости использовали непараметрический критерий log-rank [14]. Выживаемость рассчитывали от даты диагностики острого лимфобластного лейкоза до даты наступления неблагоприятного события или даты последнего контакта с пациентом. При оценке EFS событиями считались: смерть в индукции, смерть в ремиссии, рецидив, вторая опухоль, рефрактерность к терапии (non-responder). У пациентов, не достигших ремиссии, датой наступления события считалась нулевая точка (дата диагноза). Кумулятивная частота (CI) рассчитана согласно методике J. Kalbfleisch, R. Prentice [15], для сравнения рисков использовали метод Грея [16].

Многофакторный анализ был проведен с использованием модели пропорциональных рисков Кокса, логистической регрессии и деревьев принятия решений (decision tree и random forest). Для анализа качества моделей применяли оценку функции правдоподобия и основанные на ней информационные критерии Акаике и Шварца, а также ROC-анализ.

Статистический анализ был выполнен с использованием программного обеспечения SPSS (v.23.0, IBM Inc.), XLSTAT (Addinsoft) и R-statistics.

Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В период с 01.01.2010 по 01.01.2019 в лаборатории цитогенетики и молекулярной генетики НМИЦ

ДГОИ им. Дмитрия Рогачева были обследованы 2700 пациентов с ВП-ОЛЛ: 868 больных, получавших терапию по протоколу ALL-MB2008, и 1832 пациента, получавших терапию по протоколу ALL-MB2015, что составляет 28,1% и 61,1% соответственно от общего числа включенных в исследования ALL-MB2008 и ALL-MB2015 пациентов (3087 и 3000 больных соответственно).

Цитогенетическое исследование

Гиподиплоидный кариотип на основании комбинированных данных кариотипирования и исследования методом FISH был выявлен у 15 пациентов из протокола ALL-MB2008 и у 12 больных из протокола ALL-MB2015 (всего 27 пациентов). Контрольные группы включали в себя пациентов с ВП-ОЛЛ без гиподиплоидии и составили 853 и 1820 больных соответственно (всего 2673 пациента).

Из 27 пациентов у 18 имел место гиподиплоидный клон по данным кариотипирования, у 2 – удвоение околোগаплоидного клона по данным кариотипирования и FISH, у 7 пациентов с нормальным кариотипом или отсутствием митозов гиподиплоидия была установлена только на основании результатов исследования методом FISH (рисунки 1 и 2). Цитогенетическая характеристика пациентов приведена в таблице 1.

В 4 случаях число хромосом соответствовало понятию «высокая гиподиплоидия», в 4 случаях – «низкая гиподиплоидия» и в 10 случаях выявлен околোগаплоидный кариотип. В остальных случаях ($n = 9$) точно определить подгруппу гиподиплоидии не представилось возможным из-за недостаточного количества материала, но по данным исследования FISH отсутствовали 3 хромосомы и более (таблица 1). В большинстве случаев «высокой гиподиплоидии»

Рисунок 1

А – гиподиплоидный кариотип: 26,XY, +14, +21; Б – удвоенный гиподиплоидный кариотип (субклон): 52,XY, +X, +Y, +14, +14, +21, +21

Figure 1

A – a hypodiploid karyotype: 26,XY, +14, +21; B – a doubled hypodiploid karyotype (subclone): 52,XY, +X, +Y, +14, +14, +21, +21

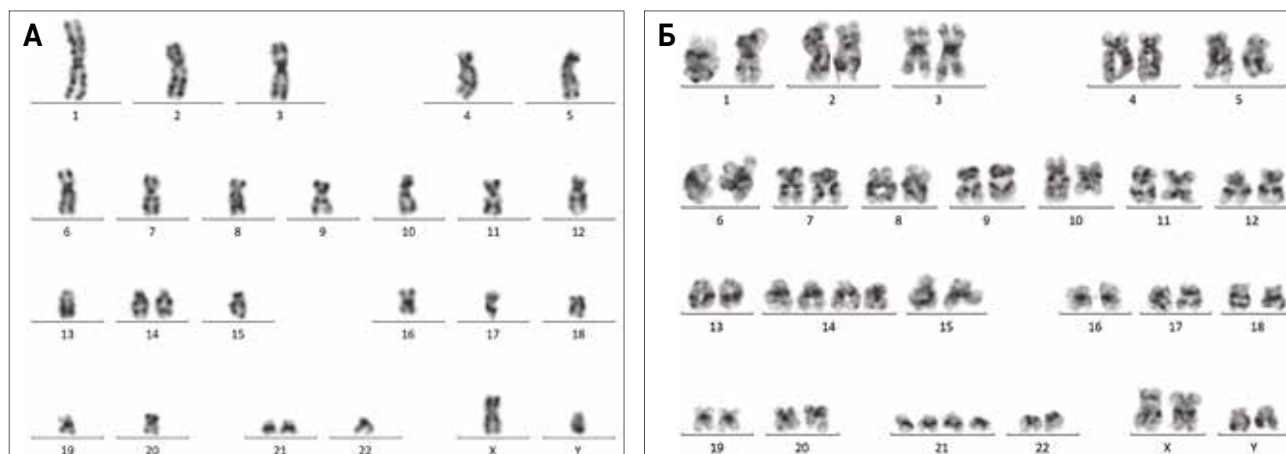


Рисунок 2

Распределение сигналов при исследовании методом FISH у пациента с гиподиплоидным клоном с кариотипом 46,XX [5]

А – моносомия 12 и 21 при исследовании с ДНК-зондом к t(12;21)(p13;q21)/ETV6-RUNX1; Б – моносомия 22 при исследовании с ДНК-зондом к t(9;22)(q34;q22)/BCR-ABL1; В – моносомия 7 при исследовании с ДНК-зондом к центромерам хромосом 7 и 8

Figure 2

FISH signal patterns in a patient with a hypodiploid clone with a 46,XX karyotype [5]

A – monosomy 12 and 21 detected using the t(12;21)(p13;q21)/ETV6-RUNX1 DNA probe; B – monosomy 22 detected using the t(9;22)(q34;q22)/BCR-ABL1 DNA probe; B – monosomy 7 detected using DNA probes for chromosome 7 and 8 centromeres

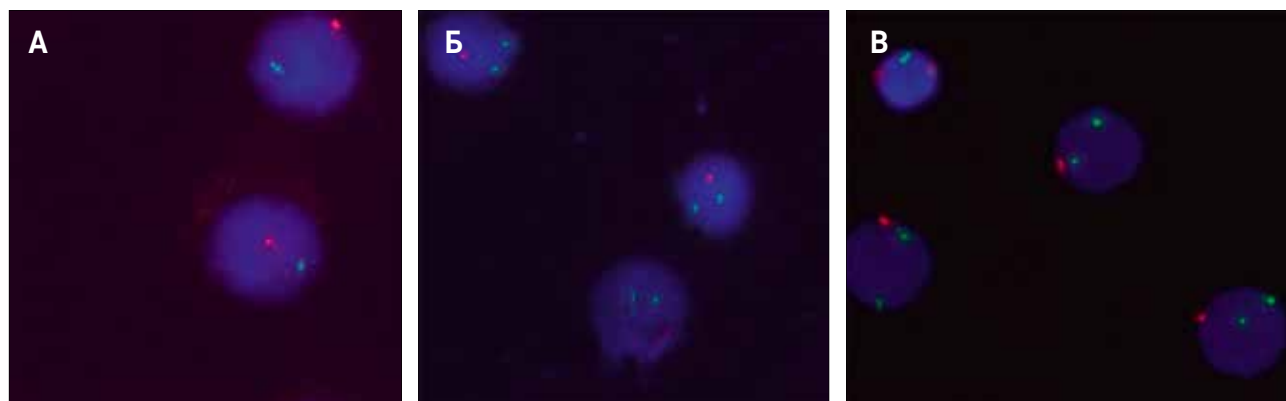
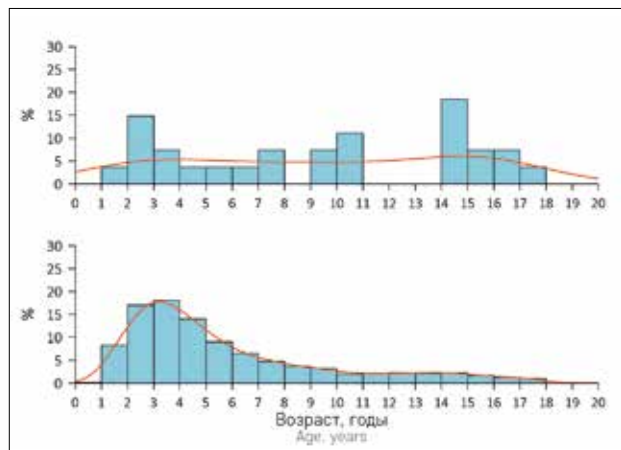


Рисунок 3

Распределение по возрасту пациентов с гиподиплоидией (верхний график) и больных контрольной группы (нижний график)

Figure 3

Age distribution of the patients with hypodiploidy (the upper graph) and the controls (the lower graph)



имели место различные структурные перестройки, в том числе у 1 пациента (N9221) выявлена перестройка гена *IgH*. Из-за отсутствия материала для дальнейшего исследования ген-партнер в этой перестройке выявить не представилось возможным. В 7 случаях имело место удвоение гиподиплоидного клона.

Клинико-гематологическая характеристика

Медиана возраста пациентов с гиподиплоидным кариотипом составила 10,4 (1,2–17,1) года. По сравнению с контрольной группой среди больных с гиподиплоидным кариотипом значительно преобладали пациенты старше 10 лет ($p < 0,0001$). Возрастного пика заболевания выявлено не было (рисунок 3). Мальчики и девочки заболевали приблизительно с равной частотой. Сравнительная клинико-гематологическая характеристика пациентов представлена в таблицах 2 и 3. Все пациенты имели фенотип CD10-позитивного ВП-ОЛЛ.

Для ВП-ОЛЛ с гиподиплоидией характерно повышенное число лейкоцитов в дебюте заболевания. Медиана количества лейкоцитов составила $24,2 (3,4–206) \times 10^9/\text{л}$ против $10,3 (0,2–1290,0) \times 10^9/\text{л}$ в контрольной группе. Число пациентов с начальным лейкоцитозом менее $30 \times 10^3/\text{мл}$ было достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,0062$). Поражение центральной нервной системы имело место у 2 пациентов.

Клинико-гематологические характеристики пациентов были сопоставимы в протоколах ALL-MB2015 и ALL-MB2008. В протоколе ALL-MB2015 достоверно больше больных получили терапию в соответствии с группой промежуточного риска, чем в протоколе ALL-MB2008 (таблица 3).

Результаты терапии

Ремиссия на 36-й день терапии была достигнута у 26 из 27 пациентов. После продолжения лечения в соответствии с группой высокого риска у не достигшего ремиссии пациента полная ремиссия была достигнута у всех больных. Один пациент погиб в ремиссии заболевания от инфекционных осложнений. Результаты терапии в общей группе ВП-ОЛЛ с гиподиплоидным кариотипом и отдельно по каждому из протоколов представлены в таблицах 4–7 и на рисунках 4–7.

Медиана наблюдения в протоколе ALL-MB2008 составила 4,35 года для пациентов с гиподиплоидным кариотипом и 6,12 года для контрольной группы, в протоколе ALL-MB2015 – 1,6 и 2,55 года соответственно.

Ответ на терапию на 8-й и 15-й дни у пациентов с гиподиплоидией достоверно не отличался от контрольной группы. Ремиссия была достигнута у 26 из 27 пациентов. В группу высокого риска были стратифицированы 6 (22,2%) больных с гиподиплоидным кариотипом, что достоверно выше, чем в контрольной группе (7,4%; $p = 0,0037$). В группу стандартного риска были определены 10 пациентов, в группу высокого и промежуточного риска – 17 больных.

EFS пациентов с гиподиплоидией составила $50 \pm 11\%$, в контрольной группе – $72 \pm 8\%$ ($p < 0,0001$). Отдельно в протоколах ALL-MB2008 и ALL-MB2015 EFS составила $53 \pm 13\%$ и $56 \pm 15\%$ соответственно.

У 10 (37%) из 27 пациентов с гиподиплоидией развился рецидив заболевания, что оказалось существенно больше, чем в контрольной группе (у 226 (8,5%) из 2673). Кумулятивная вероятность развития рецидива (CIR) при гиподиплоидном кариотипе составила $42,6 \pm 10,9\%$ против $22,3 \pm 8,1\%$ в контрольной группе ($p < 0,0001$). CIR для протоколов ALL-MB2008 и ALL-MB2015 составила $40 \pm 13,3\%$ и $36,1 \pm 15,9\%$ соответственно.

OS составила $64 \pm 10\%$ против $90 \pm 1\%$ в контрольной группе ($p < 0,0001$). Для протоколов ALL-MB2008 и ALL-MB2015 отдельно OS составила $73 \pm 11\%$ и $49 \pm 18\%$ соответственно.

При этом в группе высокого и промежуточного риска EFS была несколько выше, чем в группе стандартного риска: $62 \pm 13\%$ против $40 \pm 15\%$ ($p = 0,59$), CIR составила $26,4 \pm 12,1\%$ против $60 \pm 16,9\%$ соответственно ($p = 0,19$). Результаты терапии в зависимости от группы риска представлены на рисунке 6.

Для оценки показателей выживаемости в зависимости от количества хромосом в связи с небольшим числом наблюдений пациенты были поделены на 3 группы: с числом хромосом 26–39, 42–44 и с потерей неизвестного числа хромосом, но не менее 3 по данным исследования FISH (полностью определить число утраченных хромосом не представилось возможным из-за недостаточного коли-

чества материала). Наибольший риск развития рецидива наблюдался в группе, объединяющей пациентов с окологиподиплоидным набором хромосом и низкой гиподиплоидией (26–39 хромосом) (52,9 ± 14,4%), EFS в этой группе составила 36 ± 13% (рисунки 7).

При многофакторном анализе гиподиплоидный кариотип был независимым прогностическим фактором выживаемости и риска развития рецидива наряду с внутривитрихромосомной амплификацией гена *RUNX1* (*iAMP21*), *t*(9;22)(q34;q22)/*BCR-ABL1*, *t*(4;11)(q13;q23)/*KMT2A-AFF1*, инициальным числом лейко-

Таблица 1

Результаты цитогенетического исследования пациентов с гиподиплоидией

Table 1

The results of cytogenetic testing in the patients with hypodiploidy

№	NN	Возраст, годы Age, years	Пол Gender	Результаты кариотипирования Karyotype test results	Результаты дополнительного исследования методом FISH FISH test results (additional testing)
MB2008					
1	9221	10,63	Женский Female	44,XX,add(3q),-15,-17[4]/46,XX[1]	Перестройка <i>IgH</i> <i>IgH</i> rearrangement
2	9202	2,32	Женский Female	27,XX,-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7,-8,-9,-11,-12,-17,-17,-18,-18,-20,-20[cp7]	
3	8198	14,20	Мужской Male	33-34[2]/66-68[6]	
4	7250	2,74	Женский Female	44,XX,-8,del(9)(p21),der(12)t(8;12)(q13;p11),-13[6]/46,XX[2]	
5	6913	4,28	Мужской Male	55-52,X,-Y,+X,+21,+21,+mar1x2,+mar2x2[cp6]/46,XY[1]	
6	6638	15,26	Женский Female	26,X,+der(X)?,+21[8]/49-50,XX,+X,+der(X),+der(X),-10,+21,+21[cp6]	
7	6409	15,32	Мужской Male	33-35,XY,-2,-3,-4,-6,-7,-9,-12,-13,-14,-22,+mar[6cp]	
8	4560	16,04	Мужской Male	Нет митозов No mitosis	Моносомия 1, 7, 12, 17 Monosomy 1, 7, 12, 17
9	3338	7,85	Женский Female	34-36,XX[2]/46,XX[20]	Моносомия 9, 10, 11 Monosomy 9, 10, 11
10	2886	2,65	Мужской Male	46,XY[10]	Моносомия 7, 9, 11, 12 Monosomy 7, 9, 11, 12
11	2801	14,96	Мужской Male	34-36,XY,-2,-3,-4,-5,-7,-13,-15,-17,-20,-22[4]/66-68,XY,+1,+1,+6,+6,+8,+8,+11,+12,+14,+15,+15,+16,+17,+18,+18,+18,+18,+19,+21,+21,+22,+22,+dmin[3]/46,XY[3]	
12	1323	14,69	Женский Female	46,XX[5]	Моносомия 7, 9, 12 Monosomy 7, 9, 12
13	6694	1,22	Мужской Male	42,XY,-3,-6,-7,iso(9q),13[2]	
14	1005	9,60	Женский Female	Нет митозов No mitosis	Моносомия 1, 2, 6, 9, 11, 12, 17, 22 Monosomy 1, 2, 6, 9, 11, 12, 17, 22
15	1778	3,69	Женский Female	Нет митозов No mitosis	Моносомия 1, 7, 9, 11, 12, 19, 22 Monosomy 1, 7, 9, 11, 12, 19, 22
MB2015					
16	25323	14,95	Мужской Male	Нет митозов No mitosis	Моносомия 7, 9, 12 Monosomy 7, 9, 12
17	17172	9,10	Мужской Male	22-25,XY[cp6]	
18	11982	17,10	Женский Female	26-28,XX,-1,-2,-3,4,-5,-7,-8,-9,-11,-12,-13,-15,-16,-17,-18,-19,-20,-22[cp9]/56,XXXX[2]	
19	30127	7,70	Женский Female	28,X,-X[2]	
20	16606	10,85	Женский Female	28-33,X[cp5]	
21	26242	16,22	Женский Female	46,XX[5]	Моносомия 1, 7, 9, 11, 12, 19, 21, 22 Monosomy 1, 7, 9, 11, 12, 19, 21, 22
22	28588	10,37	Мужской Male	37-43,XY,+11[6cp]/46,XY[2]	
23	30620	6,68	Женский Female	25,XX[5]	
24	19656	3,09	Мужской Male	27,X,-Y[8]	
25	24970	14,76	Мужской Male	Нет митозов No mitosis	Моносомия 7, 11, 12 Monosomy 7, 11, 12
26	21882	5,53	Мужской Male	26,XY,-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7,-8,-9,-10,-11,-12,-13,-15,-16,-17,-18,-19,-20,-22[5]/52,XY,+X,+Y,+14,+14,+21,+21[3]	
27	12122	3,00	Мужской Male	55-56,XY,+X,+Y,+10,+10,+14,+14,+21,+21[cp7]	Моносомия 1, 7, 9, 12, 19, 22 в 15% ядер Monosomy 1, 7, 9, 12, 19, 22 in 15% of nuclei

цитов и ответом на терапию на 15-й день лечения (таблица 7).

Из представленной группы 2 пациента получили аллогенную ТГСК: один от гаплоидентичного родственного донора, второй от HLA-совместимого родственного донора, оба пациента находились в первой клинико-гематологической ремиссии по основному заболеванию. По числу хромосом пациенты относились к группе с 42–44 хромосомами. Оба пациента живы.

О терапии рецидивов сведений нет. Ни один из 10 пациентов, развивших рецидив, не был зарегистрирован в противорецидивном протоколе ALL-REZ2014.

Таблица 2

Инициальные характеристики больных с гиподиплоидией и пациентов контрольной группы

Table 2

The initial characteristics of the patients with hypodiploidy and the controls

Параметр Parameter	Гиподиплоидия Hypodiploidy		Контроль Controls		p
	n	%	n	%	
Всего Total	27	100	2673	100	
Пол Gender					
Мальчики Boys	14	51,9	1426	53,3	0,8767
Девочки Girls	13	48,1	1247	46,7	
Возраст, годы Age, years					
< 3	5	18,5	682	25,5	0,4062
≥ 3 < 10	9	33,3	1589	59,4	0,0060
≥ 10	13	48,1	402	15	< 0,0001
Лейкоцитоз, × 10 ⁹ /л Leukocytosis, × 10 ⁹ /l					
< 30	13	48,1	1994	74,6	0,0017
≥ 30 < 50	6	22,2	245	9,2	0,0200
≥ 50 < 100	4	14,8	252	9,4	0,3417
≥ 100	4	14,8	180	6,7	0,0973
Увеличение селезенки, см Spleen enlargement, cm					
< 4	18	66,7	1880	70,3	0,6782
≥ 4	9	33,3	793	29,7	
Ответ на 8-й день* Response to therapy on Day 8*					
< 1000	20	90,9	2257	97,2	0,2711
≥ 1000	2	9,1	66	2,8	
Ответ на 15-й день* Response to therapy on Day 15*					
< 10	21	84,0	2087	88,1	0,7550
≥ 10	4	16,0	283	11,9	
Поражение центральной нервной системы Involvement of the central nervous system					
Да Yes	2	7,4	43	1,6	0,0191
Нет No	25	92,6	2630	98,4	
Группа риска Risk group					
SRG	10	37	1445	54,1	0,1161
ImRG/HRG	17	63	1228	45,9	

Примечание. * – ответ на 8-й и 15-й дни известен не у всех пациентов; SRG – группа стандартного риска; ImRG – группа промежуточного риска; HRG – группа высокого риска.

Notes. * – data on response to therapy on Day 8 and 15 are not available for all patients; SRG – standard risk group; ImRG – intermediate risk group; HRG – high risk group.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первое описание острого лимфобластного лейкоза с гипоплоидным кариотипом с 32 хромосомами и удвоенного субклона с 64 хромосомами появилось в 1979 г. [17]. Неблагоприятное прогностическое значение гиподиплоидного кариотипа было определено еще в 80-х годах XX века [18–20]. Однако результаты терапии этой группы пациентов по-прежнему неутешительны.

Частота встречаемости острых лимфобластных лейкозов с гиподиплоидным кариотипом существенно разнится от исследования к исследованию от 1 до 7%. Это связано с тем, что первоначально к гиподиплоидии относили все случаи с 45 хромосомами и менее, также были ограничены возможности

Таблица 3

Сравнительная характеристика пациентов с гиподиплоидией, получавших лечение в соответствии с протоколами ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015

Table 3

A comparison of the patients with hypodiploidy treated according to the ALL-MB 2008 and the ALL-MB 2015 protocols

Параметр Parameter	ALL MB-2008		ALL MB-2015		p
	n	%	n	%	
Всего Total	15	100,0	12	100,0	
Пол Gender					
Мальчики Boys	7	46,7	7	58,3	0,5465
Девочки Girls	8	53,3	5	41,7	
Возраст, годы Age, years					
< 3	4	26,7	1	8,3	0,2229
≥ 3 < 10	4	26,7	5	41,7	0,4113
≥ 10	7	46,7	6	50,0	0,8632
Лейкоцитоз, × 10 ⁹ /л Leukocytosis, × 10 ⁹ /l					
< 30	9	60,0	4	33,3	0,1682
≥ 30 < 50	2	13,3	4	33,3	0,2141
≥ 50 < 100	2	13,3	2	16,7	0,8085
≥ 100	2	13,3	2	16,7	0,8085
Увеличение селезенки, см Spleen enlargement, cm					
< 4	11	73,3	7	58,3	0,4113
≥ 4	4	26,7	5	41,7	
Ответ на 8-й день* Response to therapy on Day 8*					
< 1000	13	86,7	7	100,0	0,4545
≥ 1000	2	13,3	0	0,0	
Ответ на 15-й день* Response to therapy on Day 15*					
< 10	13	86,7	8	80,0	0,5324
≥ 10	2	13,3	2	20,0	
Поражение центральной нервной системы Involvement of the central nervous system					
Да Yes	1	6,7	1	8,3	0,8694
Нет No	14	93,3	11	91,7	

Примечание. * – ответ на 8-й и 15-й дни известен не у всех пациентов.
Note. * – data on response to therapy on Day 8 and 15 are not available for all patients.

выявления криптоических хромосомных перестроек, которые могут присутствовать в кариотипах с числом хромосом 42–45 и зачастую сопровождаться дополнительными перестройками. В настоящее время к гиподиплоидному кариотипу относят случаи ВП-ОЛЛ без известных транслокаций с 44 хромосомами и менее [3, 4, 7, 21–23]. Гиподиплоидный кариотип является редким событием и, по современным данным, встречается примерно в 1% случаев острых лимфобластных лейкозов как у детей, так и

у взрослых. В подавляющем большинстве случаев это ВП-ОЛЛ. При остром лимфобластном лейкозе из Т-линейных предшественников описаны единичные случаи гиподиплоидного кариотипа, прогноз не определен.

В нашем исследовании гиподиплоидный кариотип был выявлен у 27 из 2700 пациентов с ВП-ОЛЛ, что составляет 1% и соответствует современным представлениям о частоте встречаемости этой генетической подгруппы.

Рисунок 4

OS у пациентов с гиподиплоидным кариотипом и в контрольной группе: А – MB-2008 + MB 2015; Б – MB-2008; В – MB 2015

Figure 4

Overall survival (OS) in the patients with a hypodiploid karyotype and in the controls: А – MB-2008 + MB 2015; Б – MB-2008; В – MB 2015

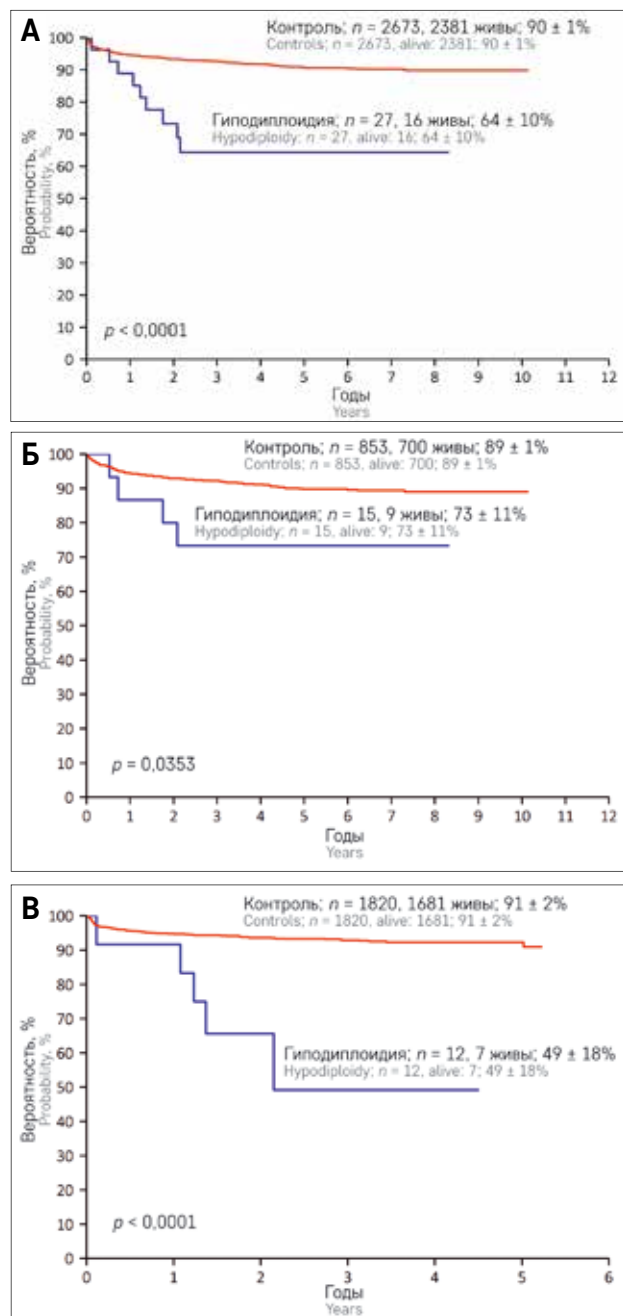
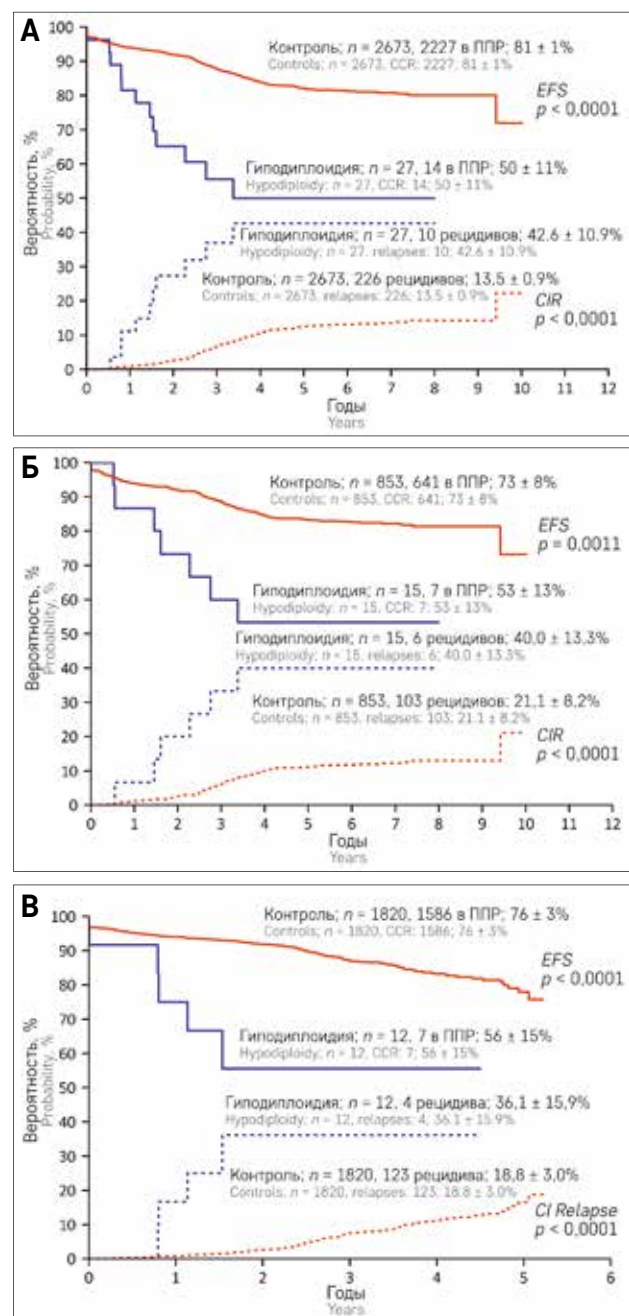


Рисунок 5

EFS и CIR у пациентов с гиподиплоидным кариотипом и в контрольной группе: А – MB-2008 + MB 2015; Б – MB-2008; В – MB 2015

Figure 5

Event-free survival (EFS) and cumulative incidence of relapse (CIR) in the patients with a hypodiploid karyotype and in the controls: А – MB-2008 + MB 2015; Б – MB-2008; В – MB 2015



Гетерогенность группы ВП-ОЛЛ, первоначально выраженная в делении на 3 подгруппы по числу хромосом: «высокая гиподиплоидия», «низкая гиподиплоидия» и случаи с окологлоидным набором хромосом, в настоящее время подтверждается различиями в наборе выявляемых мутаций и вероятных

Таблица 4

Результаты терапии пациентов с ВП-ОЛЛ с гиподиплоидией (МВ-2008 и МВ 2015) и в контрольной группе

Table 4

Treatment results in the patients with BCP-ALL and hypodiploidy (MB-2008 and MB 2015) and in the controls

Параметр Parameter	Гиподиплоидия Hypodiploidy		Контроль Controls		p
	n	%	n	%	
Всего Total	27	100,0	2673	100,0	
Ранняя смерть Early death	1	3,7	74	2,8	0,7686
Рефрактерность Refractory disease	0	0,0	2	0,1	0,8869
Ремиссия Remission	26	96,3	2597	97,2	0,7893
Смерть в ремиссии Death in remission	1	3,7	69	2,6	0,7150
Вторая опухоль Second tumor	0	0,0	1	0,0	0,9199
Рецидив Relapse	10	37,0	226	8,5	< 0,0001
Потерян из-под наблюдения Lost to follow-up	1	3,7	74	2,8	0,7686
Остаются в ремиссии Still in remission	14	51,9	2227	83,3	< 0,0001
Медиана наблюдения, годы Median follow-up, years	2,27	3,24			

Таблица 5

Результаты терапии пациентов с ВП-ОЛЛ с гиподиплоидией по протоколу МВ-2008 и в контрольной группе

Table 5

Treatment results in the patients with BCP-ALL and hypodiploidy (MB-2008) and the controls

Параметр Parameter	Гиподиплоидия Hypodiploidy		Контроль Controls		p
	n	%	n	%	
Всего Total	15	100,0	853	100,0	
Ранняя смерть Early death	0	0,0	16	1,9	0,5924
Рефрактерность Refractory disease	0	0,0	2	0,2	0,8511
Ремиссия Remission	15	100,0	835	97,9	0,5697
Смерть в ремиссии Death in remission	1	6,7	29	3,4	0,4923
Вторая опухоль Second tumor	0	0,0	1	0,1	0,8944
Рецидив Relapse	6	40,0	103	12,1	0,0012
Потерян из-под наблюдения Lost to follow-up	1	6,7	61	7,2	0,9424
Остаются в ремиссии Still in remission	7	46,7	641	75,1	0,0119
Медиана наблюдения, годы Median follow-up, years	4,35	6,12			

патогенетических механизмах, что открывает путь к поиску альтернативных путей терапии для каждой из подгрупп лейкозов с гиподиплоидным набором хромосом.

Случаи высокой гиподиплоидии подразделяют на наличие 40–43 хромосом и 44 хромосом. При числе

Таблица 6

Результаты терапии пациентов с ВП-ОЛЛ с гиподиплоидией по протоколу МВ 2015 и в контрольной группе

Table 6

Treatment results in the patients with BCP-ALL and hypodiploidy (MB-2015) and the controls

Параметр Parameter	Гиподиплоидия Hypodiploidy		Контроль Controls		p
	n	%	n	%	
Всего Total	12	100,0	1820	100,0	
Ранняя смерть Early death	1	8,3	58	3,2	0,3142
Рефрактерность Refractory disease	0	0,0	0	0,0	–
Ремиссия Remission	11	91,7	1762	96,8	0,3142
Смерть в ремиссии Death in remission	0	0,0	40	2,2	0,6036
Вторая опухоль Second tumor	0	0,0	0	0,0	–
Рецидив Relapse	4	33,3	123	6,8	< 0,0001
Потерян из-под наблюдения Lost to follow-up	0	0,0	13	0,7	0,7689
Остаются в ремиссии Still in remission	7	58,3	1586	87,1	0,0031
Медиана наблюдения, годы Median follow-up, years	1,46	2,55			

Таблица 7

Результаты многофакторного анализа

Table 7

The results of a multivariate analysis

Показатель Parameter	Относительный риск Relative risk	95% ДИ 95% CI	p
EFS			
iAMP21	7,64	2,74–21,86	0,0001
9:22	3,02	1,23–7,41	0,016
4:11	8,18	1,99–33,6	0,004
hyper	0,52	0,27–0,98	0,043
hypo	6,22	2,22–17,47	0,001
Отсутствие ответа на 15-й день No response on Day 15	2,09	1,23–3,55	0,006
Лейкоциты > 50 × 10 ⁹ /л Leukocytes > 50 × 10 ⁹ /l	2,15	1,17–3,95	0,014
Риск развития рецидива Risk of relapse			
iAMP21	12,58	4,07–38,87	0,0001
4:11	13,16	2,99–57,8	0,001
hypo	10,68	3,47–32,87	0,0001
Отсутствие ответа на 15-й день No response on Day 15	2,59	1,38–4,87	0,003
Лейкоциты > 50 × 10 ⁹ /л Leukocytes > 50 × 10 ⁹ /l	3,86	1,95–7,64	0,0001

Примечание. ДИ – доверительный интервал.
Notes. CI – confidence interval; EFS – event-free survival.

хромосом 40–44 чаще теряются хромосомы 3, 4, 7, 9, 13, 15, 16 и 17, в то время как с высокой частотой сохраняется дисомия X/Y, 14, 18, 1, 5, 6, 8, 10, 11, 19. Хромосома 21 может присутствовать в количестве 3 и более копий [3, 5, 6, 23]. В этой группе в кариотипе нередко присутствуют структурные aberrации, могут обнаруживаться несколько субклонов с дополнительными хромосомами. При высокой гиподиплоидии высока встречаемость делеций генов *CDKN2A/CDKN2B* (9p21) – 77,3% [24]. При обнаружении стратифицирующих транслокаций – часто t(9;22)(q34;q13), t(12;21)(p13;q21) – лейкоз классифицируется в соответствии с основной транслокацией. Так, в нашей группе у пациента с гиподиплоидией с 44 хромосомами (N9221) обнаружена перестройка гена *IgH*. Удвоение основного клона случается крайне редко [25, 26].

При низкой гиподиплоидии (31–39 хромосом) обычно отсутствуют хромосомы 7, 17, 3, 5, 13, 15

и 16. Редко могут встречаться дополнительные структурные перестройки. В этой группе пациентов высока частота встречаемости мутаций в генах *TP53* (91,2%), *RB1* (41,2%) и в гене семейства *IKAROS – IKZF2* (52,9%). Мутации в гене *TP53* ведут преимущественно к потере его функции (loss of function) и имеют гомозиготный характер ввиду частой потери второй хромосомы 17. По данным Helmfeld и соавт., в половине случаев детских ВП-ОЛЛ с низкой гиподиплоидией мутация в гене *TP53* присутствовала также в неопухлевой ткани, т. е. имела, вероятно, герминальный характер. Это дало авторам повод предположить, что острый лимфобластный лейкоз в этом случае является проявлением синдрома Ли-Фраумени. Однако только 1 ребенок в этом исследовании имел семейный анамнез заболевания [22, 24].

При окологаплоидном кариотипе наблюдается гаплоидный набор хромосом с дополнительными хромосомами 21, X/Y, реже 14 и 18. Для этой группы

Рисунок 6

А – EFS у пациентов с гиподиплоидным кариотипом в зависимости от группы риска. MB-2008 + MB 2015; Б – CIR у пациентов с гиподиплоидным кариотипом в зависимости от группы риска. MB-2008 + MB 2015

Figure 6

А – EFS in the patients with a hypodiploid karyotype according to risk group. MB-2008 + MB 2015; Б – CIR in the patients with a hypodiploid karyotype according to risk group. MB-2008 + MB 2015

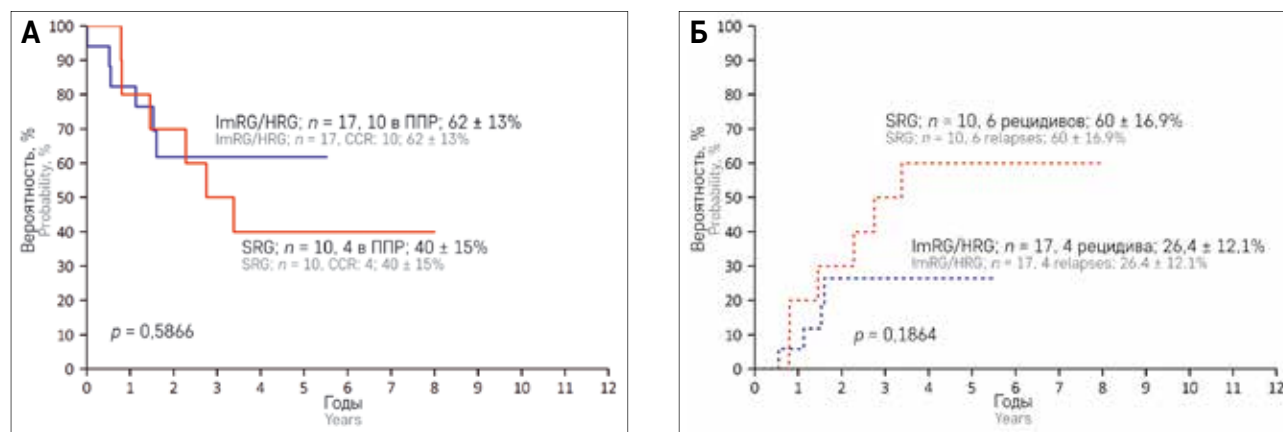
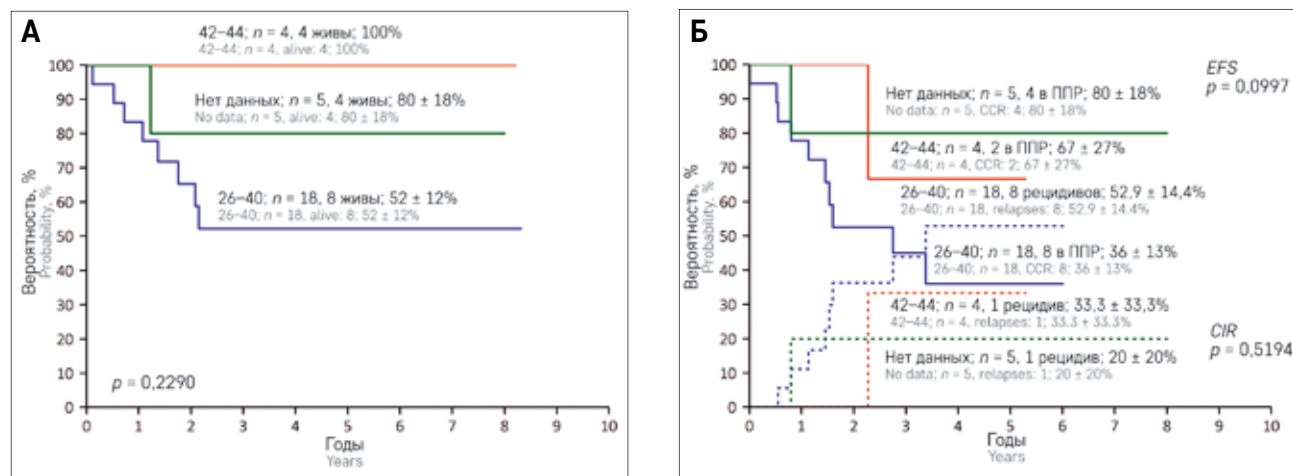


Рисунок 7

OS (A) и EFS и CIR (Б) у пациентов с гиподиплоидным кариотипом в зависимости от числа хромосом

Figure 7

OS (A) and EFS and CIR (Б) in the patients with a hypodiploid karyotype according to the number of chromosomes



не характерны дополнительные структурные перестройки. Более чем в 70% случаев окологаплоидного кариотипа обнаруживают мутации в генах *NF1* и *NRAS*, приводящие, предположительно, к активации Ras- и PI3K-сигнальных путей. Кроме того, в 13% случаев присутствуют делеции гена *IKZF3* [22, 24].

Для ВП-ОЛЛ с низкой гиподиплоидией и окологаплоидным кариотипом характерно удвоение гиподиплоидного клона, в результате чего появляется псевдогипердиплоидный субклон с числом хромосом от 50 до 78. Такое удвоение хромосомного набора, согласно данным Safavi и соавт., проанализировавших цитогенетическую базу данных Mittelman database, имело место в 64% случаев при окологаплоидном наборе хромосом и в 44% случаев при низкой гиподиплоидии. Удвоенный клон в этом случае является тетрасомным по хромосомам, которые были парными в основном клоне, и имеет полную потерю гетерозиготности (loss of heterozygosity (LOH)) по генам в хромосомах, которые отсутствовали в гиподиплоидном клоне [27]. Морфологически гиподиплоидные ВП-ОЛЛ с удвоением гиподиплоидного клона могут иметь 2 популяции бластных клеток разного размера. Бластные клетки малого размера несут гипоплоидный набор хромосом, а крупные, соответственно, удвоенный. Механизмом образования удвоенного набора считается эндоредупликация – репликация генома без последующего расхождения хромосом и образования дочерних клеток [28–32]. Случаи с удвоенным числом хромосом имеют тот же профиль транскрипции генов, что и случаи с гиподиплоидным клоном [24]. При рецидиве заболевания обнаруживается преимущественно основной – гиподиплоидный клон [22]. Но описаны и противоположные ситуации [6].

При кариотипировании на момент диагностики может выявляться только гипоплоидный клон, оба клона (гиподиплоидный и родственный псевдогипердиплоидный) или только псевдогипердиплоидный клон. Об этой ситуации необходимо помнить, так как ВП-ОЛЛ с истинной гипердиплоидией имеют совершенно противоположный прогноз. При удвоении гиподиплоидного клона в кариотипе, как правило, имеют место тетрасомии, тогда как при истинной гипердиплоидии – трисомии. При отсутствии митозов или нормальном кариотипе заподозрить присутствие псевдогипердиплоидного кариотипа помогает исследование методом FISH. Наш опыт показывает эффективность метода FISH для выявления гиподиплоидного кариотипа в случае отсутствия митозов и при нормальном кариотипе. У 7 пациентов с нормальным кариотипом или недостаточным числом метафаз для анализа гиподиплоидия была установлена на основании результатов FISH. Предположив моносомию одной хромосомы или более по резуль-

татам скрининга основных транслокаций, необходимо провести дополнительное исследование с ДНК-зондами к хромосомам 7, 4, 10, 17. Анализ ДНК-индекса методом проточной цитометрии также помогает заподозрить данную группу лейкозов, однако в рамках данного исследования он не проводился [33].

В нашей группе ВП-ОЛЛ с гиподиплоидией значительно преобладали пациенты старше 10 лет. При этом если в контрольной группе пик заболеваемости приходился на детей 3–5 лет, то при гиподиплоидном варианте ВП-ОЛЛ распределение не имело выраженного пика и было сопоставимо с возрастным распределением, характерным для пациентов с ВП-ОЛЛ и внутривитальной амплификацией гена *RUNX1* (*iAMP21*) [34]. Для ВП-ОЛЛ с гиподиплоидией было характерно повышенное число лейкоцитов в дебюте заболевания, спленомегалия. По данным других исследовательских групп, гиподиплоидный кариотип преимущественно обнаруживается у детей и подростков. Частота возникновения у мальчиков и девочек примерно одинакова. Гиперлейкоцитоз, органо-мегалия и нейрорлейкемия практически не встречаются [3, 4, 18, 25, 29, 35].

ВП-ОЛЛ с гиподиплоидным кариотипом имеет крайне неблагоприятное прогностическое значение. Нееггма и соавт. (исследовательская группа CCG) в 1999 г. продемонстрировали 6-летнюю выживаемость для пациентов с 45, 33–44 и 24–28 хромосомами в лейкемических клетках: 65%, 40% и 25% соответственно [36]. S. Raimondi и соавт. в 2003 г. показали крайне низкую выживаемость у детей с ВП-ОЛЛ и числом хромосом в лейкемическом клоне менее 45 (St. Jude Children's Research Hospital, 1984–1999 гг.). Пятилетняя безрецидивная выживаемость составила лишь 20% (CI = 10,3) по сравнению с 74,9% (CI = 1,6%) у пациентов с числом хромосом, равным 45 или более [21]. Аналогичные данные были продемонстрированы и Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO) Leukaemia Cytogenetic Study Group [37].

По данным Charrin и соавт., в группе из 24 пациентов в возрасте 15–73 лет, получавших терапию в рамках протоколов LALA-94 и LALA-SA, лишь 57% больных достигли ремиссии, более трети пациентов были резистентны к проводимой терапии и у 77% человек развился рецидив заболевания. Медиана OS составила 10,4 мес [6]. В исследовании групп MRC UKALLXII и ECOG E2993 по лечению острых лимфобластных лейкозов у 31 человека в возрасте от 15 до 65 лет безрецидивная выживаемость и OS больных с низкой гиподиплоидией и пациентов с околотриплоидным набором хромосом (удвоенным гипоплоидным клоном) составила 18% и 22% соответственно [38].

Масштабное кооперативное исследование ВП-ОЛЛ с гиподиплоидным кариотипом у детей было

проведено Nachman и соавт. Была проанализирована когорта из 139 пациентов из 10 европейских и американских исследований (AIEOP-3, BFM-5, CCG-33, COALL-3, DANA FARBER-4, POG-44, SJCRH-6, UK-20, NOPHO-6, EORTC-15). Для оценки выживаемости были доступны данные 130 пациентов с гиподиплоидным кариотипом. Восемилетние безрецидивная выживаемость и OS составили в общей группе 38,5% (CI = 4,4%) и 49,8% (CI = 4,2%) соответственно. У 56 пациентов развился рецидив заболевания. В группе больных с ВП-ОЛЛ с 44 хромосомами 8-летние безрецидивная выживаемость и OS были существенно выше, чем в группе с числом хромосом менее 44: 52,2% против 30,1% и 69% против 37,5% соответственно. Разницы в выживаемости пациентов с окологаплоидным (менее 30 хромосом), с 33–39 и 40–43 хромосомами выявлено не было. Также не было выявлено различия в выживаемости при гиподиплоидном клоне и удвоении гипоплоидного клона [26].

По данным объединенного североамериканского исследования Pediatric Oncology Group (POG) и Children's Cancer Group (CCG) (декабрь 1988 г. – август 1995 г., $n = 4986$) и POG (январь 1986 г. – ноябрь 1999 г., $n = 6793$) в группе из 6238 детей с диагнозом острый лимфобластный лейкоз и информативной цитогенетикой пациенты с числом хромосом менее 45 имели 8-летнюю безрецидивную выживаемость 46,5% в группе POG и 23,8% в группе CCG.

Учитывая данные этого и других исследований больных ВП-ОЛЛ с числом хромосом 44 и менее стали стратифицировать в группу высокого риска. Современные протоколы терапии, предполагающие стратификацию пациентов с гиподиплоидным кариотипом в группу высокого риска с активным применением ТГСК, несколько улучшили показатели выживаемости этих больных, однако они по-прежнему значительно ниже, чем в общей группе. По данным недавнего международного исследования Ponte di Legno Childhood ALL Working Group, проанализировавшего выживаемость 272 детей с гиподиплоидным острым лимфобластным лейкозом из 16 кооперативных исследовательских групп, получавших терапию по соответствующим протоколам в период с 1997 по 2013 г., 5-летняя EFS составила 55,1%, а 5-летняя OS – 61,2%. Отсутствие признаков МОБ по окончании индукции, число хромосом 44 и терапия по МОБ-ориентированным протоколам ассоциировались с более благоприятным прогнозом, EFS в этих случаях составила 75%, 74% и 62% соответственно. При этом показатели выживаемости существенно не различались для пациентов, перенесших ТГСК, и больных, получавших только химиотерапию, – 59% против 51% (после исключения пациентов с 44 хромосомами) соответственно [2].

Схожие результаты были получены Children Oncology Group (COG) при анализе выживаемости 113 пациентов с числом хромосом менее 44, получавших терапию с 2003 по 2011 г. согласно протоколу COG AALL03B1. Пятилетние EFS и OS составили 52,2% и 58,9% соответственно. ТГСК, проведенная в первую ремиссию, лишь незначительно улучшила показатели выживаемости: пятилетние EFS и OS составили 57,4% и 66,2% соответственно для пациентов, получивших ТГСК, и 47,8% и 53,8% соответственно для больных, получавших только химиотерапию. Как и в предыдущем исследовании, определяющим показателем для выживаемости было наличие МОБ на момент окончания индукции. При МОБ более 0,01% (методом проточной цитометрии) EFS и OS составили 26,7% и 29,3% соответственно. В этом случае проведенная ТГСК не влияла на исход заболевания (2019 г.).

В протоколах группы «Москва–Берлин» (ALL-MB2008, ALL-MB2015) наличие гиподиплоидии не учитывалось при стратификации на группы риска. Тем не менее EFS пациентов с гиподиплоидией составила $50 \pm 11\%$, OS – $64 \pm 10\%$, что сопоставимо с последними опубликованными данными зарубежных протоколов. CIR при гиподиплоидном кариотипе составила $42,6 \pm 10,9\%$. Возможно, это связано с тем, что 64% пациентов с гиподиплоидией получали терапию в соответствии с группой промежуточного и высокого риска (40,7% и 22,2% соответственно). При этом в группе высокого и промежуточного риска EFS была выше, чем в группе стандартного риска: $62 \pm 13\%$ против $40 \pm 15\%$ ($p = 0,59$).

Возможно, более интенсивная терапия в группе больных промежуточного и высокого риска имеет некоторое преимущество.

В зависимости от числа хромосом наибольший риск развития рецидива наблюдался в группе, объединяющей пациентов с окологаплоидным набором хромосом и низкой гиподиплоидией (26–39 хромосом; $52,9 \pm 14,4\%$), EFS в этой группе составила $36 \pm 13\%$ (рисунки 7). При многофакторном анализе гиподиплоидный кариотип был независимым прогностическим фактором выживаемости и риска развития рецидива. Оценить влияние ТГСК на выживаемость пациентов не представлялось возможным.

Неудовлетворительные результаты терапии этой генетической подгруппы ВП-ОЛЛ обусловлены биологическими особенностями опухолевых клеток, в первую очередь потерей нормальной функции гена *TP53* в результате моносомии 17, делеции 17p или мутации, а нередко того и другого вместе. Стоит также отметить, что молекулярно-биологические механизмы развития высокой гиподиплоидии и окологаплоидного кариотипа до конца не расшифрованы и подходы к таргетной терапии не разработаны. Эффективность иммунотерапии для данной группы

пациентов также пока не определена из-за редкости данного заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, согласно результатам нашего исследования, выявление гиподиплоидного кариотипа при ВП-ОЛЛ является крайне неблагоприятным прогностическим признаком.

Результаты терапии пациентов с ВП-ОЛЛ и гиподиплоидией по протоколам группы «Москва–Берлин» сравнимы с общемировыми. Пациенты с ВП-ОЛЛ и гиподиплоидией, по всей видимости, изначально должны быть стратифицированы на наиболее интенсивную ветвь терапии. Согласно данным зарубежных протоколов, таким пациентам обязательно проводить мониторинг МОБ.

Для выявления гиподиплоидии обязательно выполнение стандартного кариотипирования, при

отсутствии митозов и нормальном кариотипе необходимо проведение дополнительного исследования методом FISH.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>

Soldatkina O.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7755-0228>

Kazakova A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1085-4646>

Bydanov O.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3232-2322>

Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>

Chervova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8951-1127>

Zerkalenkova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9634-5828>

Rumyantseva Yu.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9670-3728>

Karachunskiy A.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9300-5198>

Литература

- McNeer J.L., Devidas M., Dai Y., Carroll A.J., Heerema N.A., Gastier-Foster J.M., et al. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation Does Not Improve the Poor Outcome of Children With Hypodiploid Acute Lymphoblastic Leukemia: A Report From Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2019; 37 (10): 780–9. DOI: 10.1200/JCO.18.00884
- Pui C.H., Rebora P., Schrappe M., Attarbaschi A., Baruchel A., Basso G., et al. Ponte di Legno Childhood ALL Working Group. Outcome of Children With Hypodiploid Acute Lymphoblastic Leukemia: A Retrospective Multinational Study. *J Clin Oncol* 2019; 37 (10): 770–9. DOI: 10.1200/JCO.18.00822. Epub 2019 Jan 18.
- Harrison C.J., Moorman A.V., Broadfield Z.J., Cheung K.L., Harris R.L., Reza Jalali G., et al. Childhood and Adult Leukaemia Working Parties. Three distinct subgroups of hypodiploidy in acute lymphoblastic leukaemia *Br J Haematol* 2004; 125 (5): 552–9. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.04948.x
- The Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer. Доступно по: <https://mitelmandatabase.isb-cgc.org/>. Ссылка активна на 5.04.2021.
- Pui C.H., Carroll A.J., Raimondi S.C., Land V.J., Crist W.M., Shuster J.J., et al. Clinical presentation, karyotypic characterization, and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with a near-haploid or hypodiploid less than 45 line. *Blood* 1990; 75 (5): 1170–7.
- Charrin C., Thomas X., Ffrench M., Le Q.H., Andrieux J., Mozziconacci M.J., et al. A report from the LALA-94 and LALA-SA groups on hypodiploidy with 30 to 39 chromosomes and near-triploidy: 2 possible expressions of a sole entity conferring poor prognosis in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) *Blood* 2004; 104 (8): 2444–51. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1299
- Cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia: correlations with hematologic findings outcome. A Collaborative Study of the Group Français de Cytogénétique Hématologique. [No authors listed] *Blood* 1996; 87 (8): 3135–42.
- Bennett J., Catovsky D., Daniel M., Flannery G., Galton D., Gralnick H., et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976; 33 (4): 451–8.
- Bene M.C., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A., et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9 (10): 1783–6.
- Béné M.C., Nebe T., Bettelheim P., Buldini B., Bumbea H., Kern W., et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European Leukemia Net Work Package 10. *Leukemia* 2011; 25 (4): 567–74. DOI: 10.1038/leu.2010.312
- Czepulkowski B., Bhatt B., Rooney D. Malignancy and acquired abnormalities. Ed. 2nd. Vol. 2. New York, NY: Oxford University Press; 1992. Analysis of Chromosomes from Bone marrow and Leukemic Blood. In: Human cytogenetics. A practical approach; pp. 1–25.
- ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Jean McGowan-Jordan, A. Simons, Michael Schmid. Basel: Karger; 2016.
- Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457–81.
- Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep* 1966; 50: 163–70.
- Kalbfleisch J., Prentice R. The statistical analysis of failure time data. New York: John Wiley&Sons; 1980.
- Gray R.J. A class of k-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *Ann Stat* 1988; 16: 1141–54.
- Shabtai F., Lewinski U.H., Har-Zahav L., Gafer U., Halbrecht I., Djal-detti M. A hypodiploid clone and its duplicate in acute lymphoblastic leukemia. *Am J Clin Pathol* 1979; 72 (6): 1018–24. DOI: 10.1093/ajcp/72.6.1018
- Pui C.H., Williams D.L., Raimondi S.C., Rivera G.K., Look A.T., Dodge R.K., et al. Hypodiploidy is associated with a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1987; 70 (1): 247–53.
- Nordenson I., Adrian B.A., Holmgren G., Roos G., Rudolph O., Wahlqvist O.,

- et al. Near-haploidy in childhood leukemia: a high-risk component. *Pediatr Hematol Oncol* 1988; 5 (4): 309–14. DOI: 10.3109/08880018809037371
20. Secker-Walker L.M., Chessels J.M., Stewart E.L., Swansbury G.J., Richards S., Lawler S.D. Chromosomes and other prognostic factors in lymphoblastic leukemia: a long-term follow-up. *Br J Haematol* 1989; 72 (3): 336–42. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1989.tb07713.x
 21. Raimondi S.C., Mathew S. Conventional cytogenetic techniques in the diagnosis of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Methods Mol Biol* 2003; 220: 73–82. DOI: 10.1385/1-59259-363-1:073
 22. Safavi S., Olsson L., Biloglav A., Veerla S., Blendberg M., Tayebwa J., et al. Genetic and epigenetic characterization of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget* 2015; 6 (40): 42793–802. DOI: 10.18632/oncotarget.6000
 23. Pui C.H., Yang J.J., Bhakta N., Rodriguez-Galindo C. Global effort toward the cure of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Lancet Child Adolesc Health* 2018; 2 (6): 440–54. DOI: 10.1016/S2352-4642(18)30066-X
 24. Holmfeldt L., Wei L., Diaz-Flores E., Walsh M., Zhang J., Ding L., et al. The genomic landscape of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 2013; 45 (3): 242–52. DOI: 10.1038/ng.2532. Epub 2013 Jan 20.
 25. Nachman J.B., Heerema N.A., Sather H., Camitta B., Forestier E., Harrison C.J., et al. Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2007; 110 (4): 1112–5. DOI: 10.1182/blood-2006-07-038299
 26. Moorman A.V., Chilton L., Wilkinson J., Ensor H.M., Bown N., Proctor S.J. A population-based cytogenetic study of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010; 115 (2): 206–14. DOI: 10.1182/blood-2009-07-232124
 27. Safavi S., Paulsson K. Near-haploid and low-hypodiploid acute lymphoblastic leukemia: two distinct subtypes with consistently poor prognosis. *Blood* 2017; 129 (4): 420–3. DOI: 10.1182/blood-2016-10-743765
 28. Callen D.F., Raphael K., Michael P.M., Garson O.M. Acute lymphoblastic leukemia with a hypodiploid karyotype with less than 40 chromosomes: the basis for division into two subgroups. *Leukemia* 1989; 3 (10): 749–52.
 29. Gibbons B., MacCallum P., Watts E., Rohatiner A.Z., Webb D., Katz F.E., et al. Near haploid acute lymphoblastic leukemia: seven new cases and a review of the literature. *Leukemia* 1991; 5 (9): 738–43.
 30. Ma S.K., Chan G.C., Wan T.S., Lam C.K., Ha S.Y., Lau Y.L., et al. Near-haploid common acute lymphoblastic leukaemia of childhood with a second hyperdiploid line: a DNA ploidy and fluorescence in-situ hybridization study. *Br J Haematol* 1998; 103 (3): 750–5. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1998.01044.x
 31. Misawa S., Oguma N., Testa J.R. A case of acute lymphoblastic leukemia with severe hypodiploidy. *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 16 (2): 137–43. DOI: 10.1016/0165-4608(85)90007-x
 32. Carroll A.J., Shago M., Mikhail F.M., Raimondi S.C., Hirsch B.A., Loh M.L., et al. Masked hypodiploidy: Hypodiploid acute lymphoblastic leukemia (ALL) mimicking hyperdiploid ALL in children: A report from the Children's Oncology Group. *Cancer Genet* 2019; 238: 62–8. DOI: 10.1016/j.cancergen.2019.07.009. Epub 2019 Jul 30.
 33. Rachieru-Sourisseau P., Baranger L., Dastugue N., Robert A., Geneviève F., Kuhlein E., et al. DNA Index in childhood acute lymphoblastic leukemia: a karyotypic method to validate the flow cytometric measurement. *Int Lab Hematol* 2010; 32 (3): 288–98. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2009.01189.x
 34. Ольшанская Ю.В., Казакова А.Н., Червова А.А., Румянцева Ю.В., Литвинов Д.В., Зеркаленкова Е.А. и др. Внутрихромосомная амплификация 21q (iAMP21) как маркер неблагоприятного прогноза при острых лимфобластных лейкозах из В-линейных предшественников. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2018; 17 (1): 37–45.
 35. Brodeur G.M., Williams D.L., Look A.T., Bowman W.P., Kalwinsky D.K. Near-haploid acute lymphoblastic leukemia: a unique subgroup with a poor prognosis? *Blood* 1981; 58 (1): 14–9.
 36. Heerema N.A., Nachman J.B., Sather H.N., Sensel M.G., Lee M.K., Hutchinson R., et al. Hypodiploidy with less than 45 chromosomes confer risk in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the children's cancer group. *Blood* 1999; 94 (120): 4036–45.
 37. Forestier E., Johansson B., Gustafsson G., Borgström G., Kerndrup G., Johannsson J., Heim S. Prognostic impact of karyotypic findings in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a Nordic series comparing two treatment periods. For the Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO) Leukaemia Cytogenetic Study Group. *Br J Haematol* 2000; 110 (1): 147–53. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.02153.x
 38. Moorman A.V., Harrison C.J., Buck G.A., Richards S.M., Secker-Walker L.M., Martineau M., et al. Adult Leukaemia Working Party, Medical Research Council/National Cancer Research Institute. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood* 2007; 109 (8): 3189–97. DOI: 10.1182/blood-2006-10-051912

10.24287/1726-1708-2021-20-2-111-120

Клинико-морфологические характеристики нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием у детей. Опыт одного Центра

М.А. Сенченко, Д.С. Абрамов, Г.А. Насирдинова, Е.В. Волчков, Д.М. Коновалов, Н.В. Мякова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием (НЛХЛП) – отдельный вариант лимфомы Ходжкина (ЛХ) с относительно хорошим прогнозом. Опухоль заметно отличается от классической ЛХ и является одной из форм В-клеточной лимфомы, несмотря на индолентное течение, имеет склонность к множественным и часто поздним рецидивам. Выделяют 6 морфологических паттернов. На сегодняшний день продолжаются исследования, направленные на поиск прогностического значения паттернов НЛХЛП. Несмотря на распространенность во всех возрастных группах, большая часть оригинальных исследований выполнена среди взрослых пациентов, тогда как среди детской популяции публикации по данной теме единичны. Мы провели ретроспективный анализ собственных наблюдений НЛХЛП у детей с целью сравнительной оценки иммуноархитектурных паттернов и выявления возможных взаимосвязей между видом паттерна и клиническим течением заболевания и сравнили полученные результаты с данными литературы. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В исследование были включены 28 пациентов с первичной или рецидивной НЛХЛП (20 мальчиков и 8 девочек) в возрасте от 3 до 18 лет (медиана 10,5 года). Полная клиническая информация была доступна у 24 пациентов. В 2 случаях рецидива/прогрессии проведено определение клональных перестроек генов иммуноглобулинов и Т-клеточного рецептора с помощью высокопроизводительного секвенирования (next generation sequencing, NGS). Для сравнения и оценки статистической значимости различий в группах паттернов применялся точный тест Фишера. Распространенность заболевания составила 3,9% среди всех диагностированных случаев ЛХ в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. У 18 (75%) человек при инициальном обследовании была установлена I–II стадия, у 5 (20,8%) – III стадия, у 1 (4,2%) – IV стадия. Среди морфологических паттернов отмечалось преобладание паттерна А ($n = 16$; 57,1%), вторым по частоте был паттерн С ($n = 6$; 21,4%), третьим – паттерн F ($n = 5$; 17,9%) и 1 (3,6%) случай представлен паттерном В. Рецидив возник у 2 пациентов с IА стадией (паттерны С и А/С) после хирургического лечения в объеме эксцизионной биопсии без дополнительного проведения химио- или лучевой терапии через 2,5 мес и 3 года соответственно, в последнем случае также произошла смена паттерна на более неблагоприятный (А/С на С). Случаев трансформации в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому выявлено не было. На момент написания статьи все пациенты находились в ремиссии. Значимых различий между клиническими особенностями и течением болезни в случаях с различными гистологическими паттернами выявлено не было, вероятно, вследствие небольшого числа пациентов. В 2 случаях мы наблюдали изменение паттерна, в одном – на фоне химиотерапии, во втором – после хирургического лечения без химиотерапии. Продолжение исследования с накоплением и расширением когорты пациентов позволит выявить прогностическое значение паттернов у детей, что может стать одним из критериев будущей шкалы стратификации групп риска у детей в целях подбора терапии.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием, детские лимфомы, лимфома

Сенченко М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 111–120. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-111-120

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 29.01.2021

Принята к печати 15.04.2021

Контактная информация:

Абрамов Дмитрий Сергеевич, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: dmitry.abramov@fcho-moscow.ru

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 29.01.2021

Accepted 15.04.2021

Nodular lymphocyte-predominant Hodgkin Lymphoma in children. Retrospective clinical and morphological analysis of the patients. One Center experience

M.A. Senchenko, D.S. Abramov, G.A. Nasirdinova, E.V. Volchkov, D.M. Kononov, N.V. Myakova

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Dmitry S. Abramov,
MD, pathologist, Pathology Department,
Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology, Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samoy Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: dmitry.abramov@fccho-moscow.ru

Lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma (NLPHL) is a unique variant of Hodgkin's lymphoma (LH) with a relatively good prognosis. The tumor differs markedly from classic LH and is one of the forms B cell lymphoma. Despite the indolent course, it has a tendency to multiple and often late relapses. Microscopically, the tumor has 6 distinguishable morphological patterns. Despite the prevalence in all age groups, most of the original studies were performed among adult patients, while there are only several publications among the children's population. The aim of this study – retrospective analysis pediatric group of the NLPHL, evaluate the prognostic implication of histopathologic variants. Comparing our own data with another study groups. This study is supported by the Independent Ethics Committee and approved by the Academic Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. Study was included the biopsies aged 3 to 18 years (median 10.5 years) of 28 patients with NLPHL from the archive by Department of Pathology Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology from 2014 to 2020. The tumor more commonly affects males (20 boys and 8 girls, male-female ratio, 2.5:1). Complete clinical information was available in 24 patients. The clonal molecular assays were performed in 2 cases of relapse/progression of the disease. The Fisher's exact test was used to compare and evaluate the statistical significance of the differences in groups of patterns. There were no significant differences between typical patterns and variants, probably due to the small number of the patients. Further research will create a predictive scale for stratification by the risk groups. In cases of poor response to therapy, there is a risk that the pattern will turn into a prognostically more unfavorable variant.

Key words: Hodgkin's lymphoma, nodular lymphocytic-predominant Hodgkin's lymphoma, childhood lymphomas, lymphoma

Senchenko M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 111–120.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-111-120

Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием (НЛХЛП) – В-клеточная лимфома, которая исторически отнесена в группу ходжкинских лимфом (ЛХ), несмотря на особенности клинического течения, лечения и прогноза, а также заметные морфологические, иммуногистохимические отличия от классической ЛХ.

Согласно данным мировой литературы, распространенность заболевания составляет 5–10% среди всех случаев ЛХ [1], у детей – до 10–12% [2]. Пик заболеваемости приходится на 4–5-ю декаду и подростковый возраст, самый ранний возраст возникновения НЛХЛП, упоминаемый в литературе, – 2 года [3]. Соотношение лиц мужского пола к женскому – 3:1 [1]. В исследованиях, выполненных среди детской популяции, отмечается выраженное превалирование лиц мужского пола до 6,25:1 [4–6].

Клинические проявления НЛХЛП у детей не отличаются от таковых у взрослых, в большинстве случаев единственным симптомом является регионарное увеличение периферических лимфатических узлов преимущественно выше диафрагмы, что соответствует стадии I–II по Ann Arbor [4–9].

Кроме особенностей клинического течения НЛХЛП имеет морфологические и иммуногистохимические характеристики, которые отличают ее от классической ЛХ. При гистологическом исследовании НЛХЛП характеризуется нодулярным или диффузно-нодулярным ростом. Немногочисленные дискретно расположенные опухолевые крупные клетки с характерной морфологией, называемые в литературе «попкорн», или LP-клетки (клетки лимфоцитарного преобладания) расположены среди клеток

реактивного окружения, представленных мелкими Т- и В-лимфоцитами в различном соотношении, гистиоцитами и эпителиоидными клетками. Среди клеток микроокружения определяется компактная или выраженно деформированная, растянутая сеть фолликулярных дендритных клеток. Склероз стромы нехарактерен, может возникать в случае рецидива, в результате которого также отмечается распространение LP-клеток за пределы нодулей в межузловые пространства, развитие диффузного характера роста с исчезновением фолликулярной дендритной сети и изменение соотношения числа В- и Т-лимфоцитов в сторону увеличения клеточной популяции последних [1, 10–12].

При иммуногистохимическом (ИГХ) исследовании LP-клетки позитивны к анти-CD45, CD20, CD79a, PAX-5, BCL6, Bob1 и Oct2. Отмечается негативная реакция к анти-CD15 и CD30, в редких случаях может отмечаться слабая позитивная реакция, в 50% случаев – экспрессия клетками ЕМА [1]. Вокруг LP-клеток CD3/CD5/PD1-позитивные фолликулярные Т-хелперы формируют розеточные структуры [13, 14] (рисунки 1).

В зависимости от характера роста НЛХЛП имеет гетерогенную морфологическую картину. В 2003 г. Fan и соавт. провели исследование по сопоставлению морфологической картины с иммунофенотипом, результатом явилось условное разделение на 6 иммуноархитектурных паттернов – А, В, С, D, Е, F (рисунки 2) [11]. При дальнейшем изучении были установлены связь между паттерном роста и клиническим течением заболевания, прогностическое значение паттернов, влияние на риск развития прогрессии и рецидивов [2, 10–12], среди детей

Рисунок 1

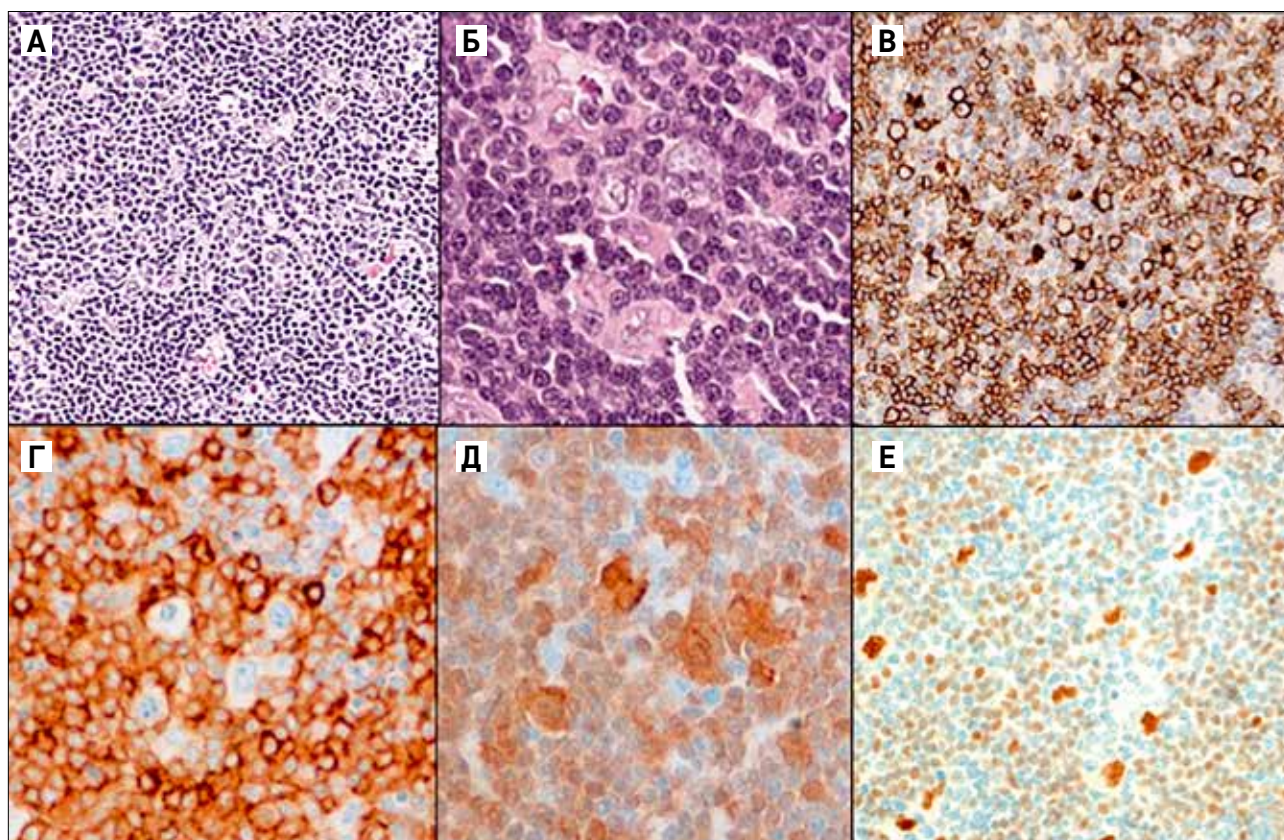
Гистологические и ИГХ-признаки НЛХЛП

А – среди реактивного микроокружения, представленного мелкими лимфоцитами и эпителиоидными клетками, определяются крупные клетки со слабо эозинофильной цитоплазмой, $\times 200$; Б – представлены крупные LP-клетки с умеренным количеством эозинофильной цитоплазмы, округлыми, везикулярными ядрами с неровными контурами, в которых просматриваются несколько эозинофильных ядрышек, $\times 600$; В – ИГХ-исследование к анти-CD20, видны крупные позитивные LP-клетки, расположенные среди многочисленных реактивных, мелких В-лимфоцитов, $\times 200$; Г – мелкие, CD3-позитивные Т-лимфоциты формируют розеточные структуры вокруг LP-клеток, $\times 400$; Д, Е – LP-клетки позитивны при реакции к анти-BOB-1, OCT-2, $\times 400$

Figure 1

Histological and immunohistochemical features of NLHLP

А – within the reactive microenvironment, presented by a small lymphocytes and epithelioid cells, large cells with a weakly eosinophilic cytoplasm (H&E stain $\times 200$); Б – large LP cells with a moderate amount of eosinophilic cytoplasm, rounded, vesicular nuclei with irregular contours, in which several eosinophilic nucleoli are visible (H&E stain $\times 600$); В – expression of CD20 shows large positive LP cells located among numerous reactive, small B lymphocytes (CD20, IHC, $\times 200$); Г – reactive CD3-positive T lymphocytes form rosette-like structures around the LP cells (CD3, IHC, $\times 400$); Д, Е – LP tumor cells are positive for anti-BOB-1, OCT-2 stain (BOB-1, OCT-2, IHC, $\times 400$)



аналогичная работа выполнена группой исследователей под руководством Shankar [2].

В целом пациенты со стадией I–II имеют хороший прогноз, 10-летняя выживаемость составляет 80% среди взрослой популяции [1]. В детской популяции описываются еще более высокие показатели общей выживаемости, достигающие 100%, что связано с более частым выявлением заболевания на ранних стадиях, а также малой медианой наблюдения в большинстве работ, выполненных среди детского населения [3, 6, 15]. В литературе описаны единичные случаи летального исхода в результате распространения и прогрессии заболевания у детей [4].

Немаловажное значение в стратификации прогноза и рисков имеет паттерн роста опухоли. Hartmann и соавт. оценили влияние гистопатологических вариантов на прогноз заболевания. Паттерны C, D, E, F ассоциированы с распространенной стадией заболевания (29,5% против 14,6%; $p = 0,0012$) и более частым возникновением рецидивов (18,1%

против 6,5% за период 5 лет, $p = 0,0009$). В соответствии с полученными результатами гистологический вариант представляет собой независимый прогностический фактор [10]. Среди детей влияние паттернов на течение и прогноз заболевания показано в исследовании Shankar и соавт., дети с атипичными паттернами (B, C, D, E, F) имели более распространенную стадию на момент манифестации и плохой ответ на проводимую терапию с более высоким риском развития рецидива [2].

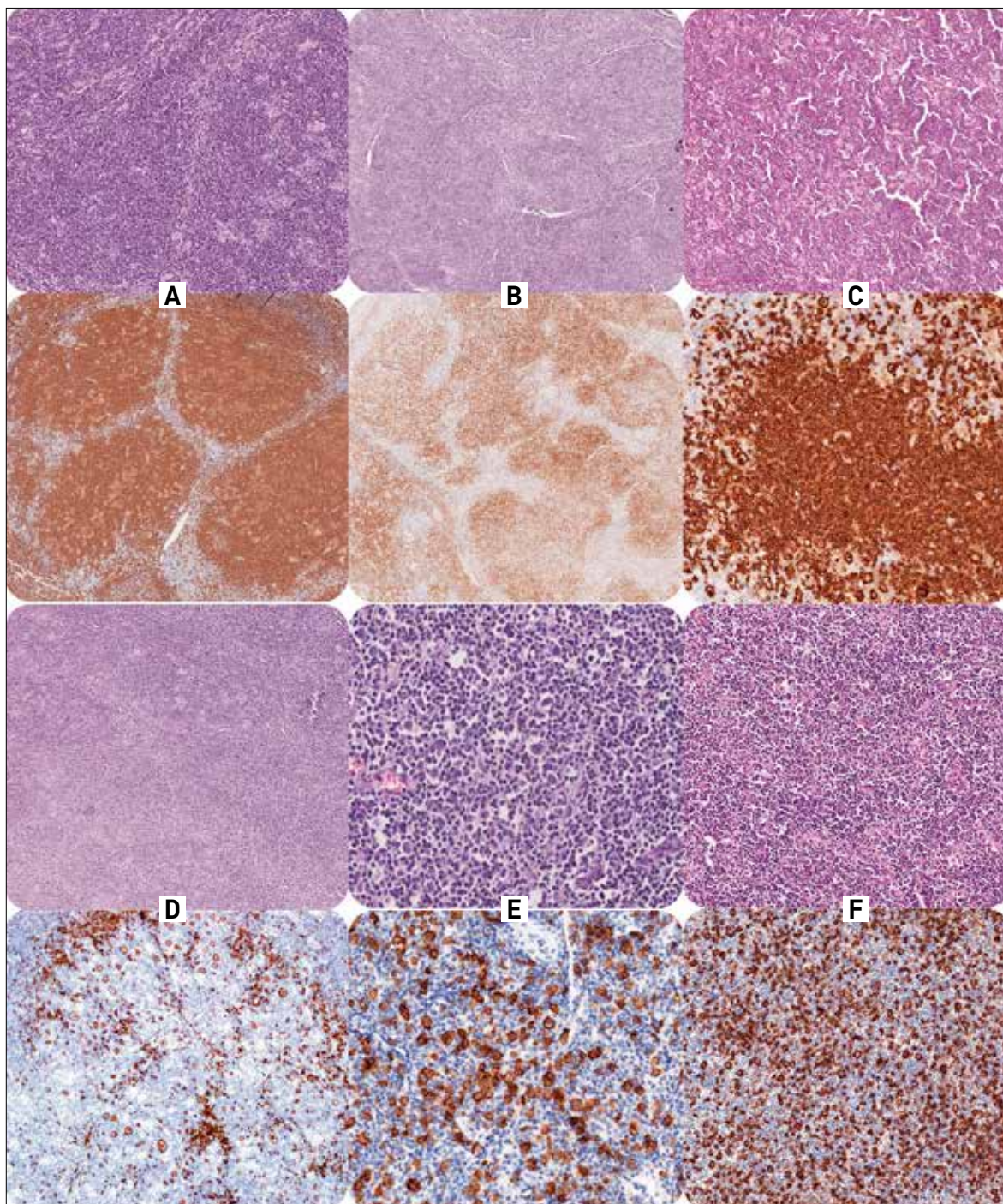
Несмотря на благоприятную клиническую картину и хороший прогноз, опухоль часто рецидивирует. Ряд авторов в своих исследованиях публикуют случаи трансформации в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДКБКЛ) или богатую Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ [16, 17]. Такой неблагоприятный исход, по разным данным, встречается с частотой от 7 до 12% при 10-летнем наблюдении и до 30% за 20 лет наблюдения среди взрослого населения [17].

Рисунок 2**Гисто- и иммуноархитектоника паттернов (ИГХ-реакция к анти-CD20)**

Паттерн А (классический, узловой, богатый В-лимфоцитами паттерн): крупные, хорошо различимые, округлые нодулы, которые состоят преимущественно из реактивных В-лимфоцитов, LP-клетки расположены в пределах нодулярных структур. Паттерн В (серпигинозный узловой паттерн): нодулы имеют неправильную, «змеевидную» форму, состоят преимущественно из реактивных В-лимфоцитов, LP-клетки расположены в пределах нодулярных структур. Паттерн С (узловой с преобладанием экстранодулярных LP-клеток): нодулярное строение сохраняется, большинство LP-клеток расположены в межнодулярных пространствах среди реактивных Т-лимфоцитов. Паттерн D (узловой богатый Т-лимфоцитами): просматривается нодулярное строение, нодулы состоят преимущественно из реактивных Т-лимфоцитов, LP-клетки имеют внутриузловую локализацию. Паттерн E (богатая лимфоцитами и гистиоцитами крупноклеточная В-крупноклеточная лимфома – лайк): диффузный характер роста, LP-клетки расположены среди реактивных Т-лимфоцитов и гистиоцитов. В-лимфоциты единичны. Паттерн F (диффузный, богатый В-лимфоцитами «изъеденный молью»): диффузный характер роста, преобладающей клеточной популяцией являются Т-лимфоциты, среди которых просматриваются многочисленные В-лимфоциты, не формирующие нодулярные структуры

Figure 2**Histological and immunological architecture of the patterns (immunohistochemistry with CD20 antibody)**

Pattern A (classic, nodular, B-lymphocyte-rich pattern): large, well-defined, rounded nodules, which consist predominantly of reactive B-lymphocytes, LP cells are located within the nodular structures. Pattern B (serpiginous nodular pattern): nodules have an irregular, "serpentine" shape, consist mainly of reactive B-lymphocytes, LP cells are located within nodular structures. Pattern C (nodular with a predominance of extranodular LP cells): the nodular structure is preserved, the majority of LP cells are located in the internodular spaces among reactive T lymphocytes. Pattern D (nodular rich in T-lymphocytes): a nodular structure is visible, nodules consist mainly of reactive T-lymphocytes, LP cells have intra-nodal localization. Pattern E (lymphocyte and histiocyte-rich large B-cell lymphoma – like): diffuse growth pattern, LP cells are located among reactive T-lymphocytes and histiocytes. B-lymphocytes are rare. Pattern F (diffuse, rich in B-lymphocytes "moth-eaten"): diffuse nature of growth, the predominant cell population is T-lymphocytes, among which there are numerous B-lymphocytes that do not form nodular structures



Среди детской популяции, по данным литературы, случаи трансформации единичны [5].

На сегодняшний день продолжают исследования, направленные на поиск прогностического значения паттернов НЛХЛП. Большая часть оригинальных исследований выполнена в группах взрослого населения, тогда как среди детской популяции работы на данную тему единичны, несмотря на тот факт, что одним из пиков заболеваемости является подростковый возраст.

Целью нашего исследования стал анализ собственных наблюдений НЛХЛП у детей с проведением сравнительной оценки иммуноархитектурных паттернов и выявлением возможных взаимосвязей между видом паттерна и клиническим течением, прогнозом заболевания, а также сравнение собственных и мировых данных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

В исследовании ретроспективно проанализированы данные о 28 пациентах с верифицированным диагнозом НЛХЛП, выставленным в лаборатории патологической анатомии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева за период с 2014 по 2020 г.

На основании данных сопроводительной документации и результатов исследования гистологических препаратов из архива отделения отобраны 28 пациентов с НЛХЛП: 20 мальчиков и 8 девочек в возрасте от 3 до 18 лет (медиана – 10,5 года).

Диагноз выставлен в соответствии с классификацией Всемирной организации здравоохранения 2016 г. с определением паттерна роста. Гистологические препараты доступны к пересмотру для каждого случая. Для диагностики использован метод рутинного гистологического исследования гематоксилином и эозином. В каждом из 28 представленных на исследование гистологических препаратов проведены реакции к анти-CD20, CD79a, PAX-5, CD30, OCT2, BOB1, EMA, CD23, CD3, CD5, Ki-67. В отдельных случаях использованы антитела к CD4, CD8, EBV (LMP1), CD68, PD1, зонд EBER *in situ* (Epstein-Barr Virus Encoded RNA by *in situ* Hybridization).

Полная клиническая информация была доступна у 24 пациентов, клиническую картину и стадию оценивали по анамнестическим и катamnестическим данным выписок и историй болезни, стадия выставлялась в соответствии с классификацией Ann Arbor.

Определение клональных перестроек генов иммуноглобулинов и Т-клеточного рецептора

выполнялось с помощью высокопроизводительного секвенирования (next generation sequencing, NGS). Анализ полученных данных проводился с помощью оригинального метода, описанного ранее [18].

Для сравнения и оценки статистической значимости различий в группах паттернов (типичные паттерны A, B и варианты C, D, E, F) применялся точный тест Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении ретроспективного анализа 28 морфологически подтвержденных случаев НЛХЛП распространенность данного заболевания среди детской популяции составила 3,9% среди всех диагностированных случаев классической ЛХ, выявленных в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева за период с 2014 по 2020 г. Средний возраст составил 11,5 года, медиана – 10,5 года, отношение лиц мужского пола к женскому – 2,5:1. Время от появления первых симптомов заболевания (увеличение лимфоузлов) до постановки диагноза составило от 1 мес до 6 лет.

У 6 (25%) пациентов на момент инициального обследования установлена I стадия заболевания, у 12 (50%) – II стадия, у 5 (20,8%) – III стадия, у 1 (4,2%) – IV стадия в соответствии с классификацией Ann Arbor. Отмечается заметное преобладание ранних стадий (I–II – 75%), среди которых поражение лимфатических узлов выше диафрагмы встречалось в 88,9% ($n = 16$) случаев, ниже диафрагмы – в 11,1% ($n = 2$).

Наиболее частым среди пациентов с ранними стадиями оказалось поражение лимфатических узлов головы и шеи, что встречалось в 10 (55,6%) из 18 случаев. В 2 (11,1%) случаях выявлено одиночное поражение паховых или подмышечных лимфатических узлов, в 1 (5,5%) – сочетанное поражение подвздошных, паховых и бедренных лимфатических узлов, остальные 5 (27,8%) случаев представлены поражением лимфатических узлов головы и шеи в сочетании с поражением подмышечных и лимфатических узлов средостения. Среди пациентов со стадией I–II поражение лимфатических узлов средостения при дополнительном инструментальном обследовании отмечалось в 2 (11,1%) случаях.

При инициальном обследовании III–IV стадия выявлена в 25% ($n = 6$) случаев, с генерализованным поражением лимфатических узлов по обе стороны диафрагмы, в том числе внутригрудных ($n = 2$; 33,3%) и внутрибрюшных ($n = 5$, 83,3%), у 2 (33,3%) человек из этой группы также выявлены признаки экстранодального поражения с вовлечением в одном случае селезенки, во втором – костей

скелета (тел позвонков С7, Th7, 7-го ребра, костей таза).

У 62,5% ($n = 15$) больных выявлено поражение 3 групп лимфатических узлов и более.

У 4 (16,7%) пациентов заболевание развивалось с признаками интоксикации (В-симптомы), 3 из них имели II стадию заболевания, 1 – I стадию.

У большей части ($n = 20$) пациентов для оценки были доступны лабораторные данные (общий анализ крови, уровень общего белка, альбумина, лактатдегидрогеназы), изменение которых отмечалось лишь у 1 больного с IV стадией и генерализованным поражением лимфатических узлов и вовлечением в патологический процесс костей скелета (лейкоцитоз до $12 \times 10^9/\text{л}$ с абсолютным нейтрофилезом).

После проведения гистологического и ИГХ исследований биопсийного материала НЛХЛП была разделена на иммуноархитектурные паттерны. Для оценки иммуноархитектурных паттернов были использованы моноклональные антитела к CD20, CD3, CD23, в результате чего при оценке первичного биопсийного материала были выявлены 4 из 6 описанных Fan и соавт. паттернов роста: классический узловой богатый В-лимфоцитами (паттерн А), серпигинозный узловой (паттерн В), узловой с преобладанием экстранодулярных LP-клеток (паттерн С) и диффузный богатый В-лимфоцитами паттерн (паттерн F), которые условно были разделены на так называемые типичные паттерны (А, В) и нетипичные, или гистопатологические, варианты (С, D, E, F). При сравнении этих 2 групп по различным категориям статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$) (таблица 1).

Таблица 1
Сравнительная характеристика паттернов

Table 1
A comparative analysis of the patterns

Показатель Parameter	Тип А/В, $n = 14$ (%) Type A/B, $n = 14$ (%)	Тип не-А/В, $n = 10$ (%) Type non-A/B, $n = 10$ (%)
Стадия ЛХ: The stage of LH:		
I	4 (28,6)	2 (20,0)
II	7 (50,0)	5 (50,0)
III	3 (21,4)	2 (20,0)
IV	0 (0)	1 (10,0)
III–IV	3 (21,4)	3 (30,0)
В-симптомы B symptoms	3 (21,4)	1 (10,0)
Поражение средостения Mediastinal involvement	1 (7,1)	2 (20,0)
≥ 3 лимфатических узлов ≥ 3 lymph nodes	9 (57,1)	7 (70,0)
Экстранодальное поражение Extranodal involvement	1 (7,1)	1 (10,0)
Прогрессия Progression	1 (5,88)	
Рецидив Relapse	1 (5,88)	1 (10,0)

Среди выявленных паттернов отмечается преобладание типичных паттернов А/В и их сочетаний, которые были выявлены в 17 (60,7%) случаях, остальные 11 (39,3%) отнесены к гистопатологическим вариантам, представлены паттернами С и F и их различными вариациями (таблица 2).

У 2 пациентов при дальнейшем наблюдении произошла смена паттернов на более неблагоприятный вариант. В одном случае смена паттерна А/С на С произошла при возникновении рецидива спустя 3 года от окончания лечения (рисунок 3).

У второго пациента смена паттерна А/F на Е произошла на фоне плохого ответа на проводимую химиотерапию, по окончании которой была проведена повторная эксцизионная биопсия (рисунок 4). При молекулярно-генетическом исследовании опухолевого материала 2 паттернов общих клонов не выявлено.

В 17 случаях была выполнена трепанобиопсия, по результатам которой признаков опухолевого поражения костного мозга выявлено не было.

Проведение исследования неиммуофлуоресцентной гибридизации *in situ* с зондом EBER было возможно у 16 пациентов, во всех случаях получены отрицательные результаты.

Все 24 пациента достигли полной ремиссии после инициальной терапии, у 2 больных, в отношении которых хирургический метод лечения был использован как основной без дополнительного проведения химио- и лучевой терапии, возник рецидив спустя 2,5 мес и 3 года. После проведения химиотерапии оба пациента достигли полной ремиссии.

Продолжительность наблюдения после завершения лечения составила от 1 до 42 мес. За это время достоверных данных за рецидив или прогрессию заболевания ни у одного из пациентов не получено.

Таблица 2
Распределение пациентов по морфологическим паттернам

Table 2
The distribution of the patients by morphological patterns

Дополнительный паттерн Additional pattern	Основной паттерн Main pattern			
	A	B	C	D
A	$n = 10$ (62,5%)			
B	$n = 1$ (6,25%)	$n = 1$ (100%)		
C	$n = 3$ (18,75%)		$n = 4$ (66,7%)	$n = 1$ (20%)
D				
E				$n = 2$ (40%)
F	$n = 2$ (12,5%)		$n = 2$ (33,3%)	$n = 2$ (40%)
Всего Total	$n = 16$	$n = 1$	$n = 6$	$n = 5$

Рисунок 3

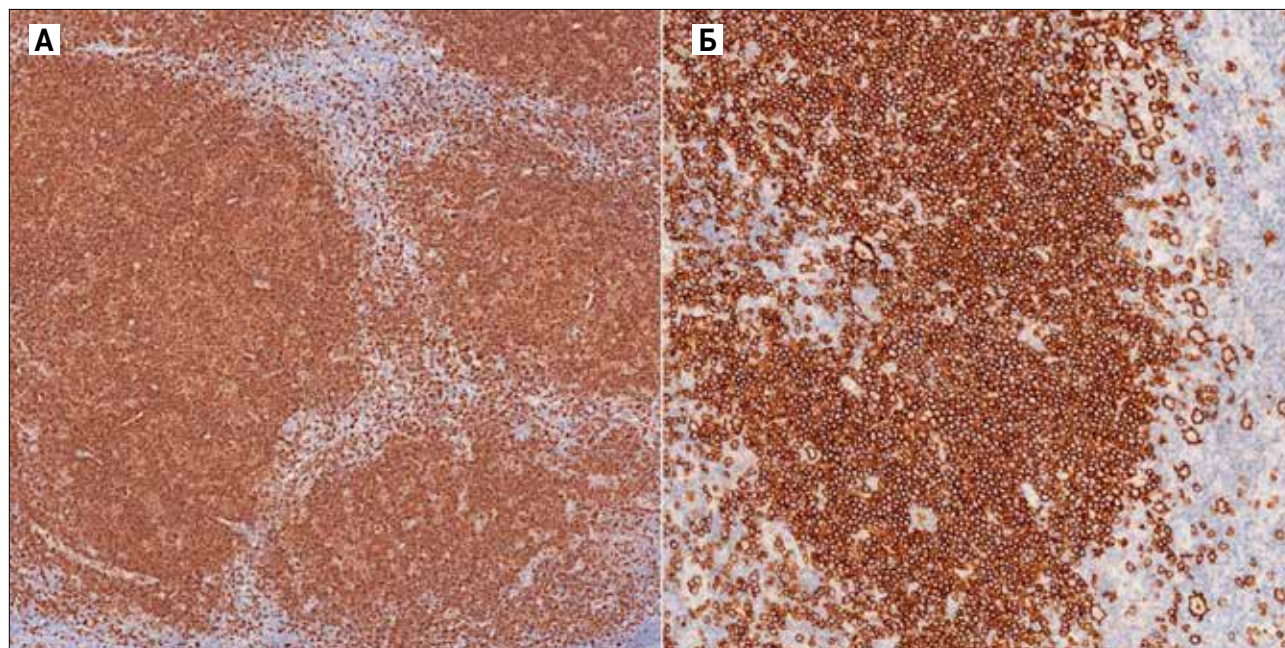
Морфологическая картина смены иммуноархитектурного паттерна при возникновении рецидива спустя 3 года после проведенного лечения в объеме эксцизионной биопсии, ИГХ-исследование к анти-CD20

А – паттерн А: клеточный инфильтрат нодулярного вида, LP-клетки расположены внутри узлового образования среди большого количества мелких реактивных В-лимфоцитов (CD20, ИГХ-исследование, $\times 200$); Б – паттерн С: отмечается нодулярное строение, LP-клетки расположены преимущественно в междоулярных пространствах среди мелких, реактивных Т-лимфоцитов (CD20, ИГХ-исследование, $\times 200$)

Figure 3

A morphological picture revealing a change of immunoarchitectural pattern in a patient who relapsed 3 years after treatment (an excisional biopsy), CD20 immunohistochemistry

A – pattern A: nodular cell infiltrate, LP cells inside of the nodal formation among a number of small reactive B-lymphocytes (CD20, IHC, $\times 200$); Б – pattern C: nodular structure is noted, LP cells are located mainly in internodular spaces among small, reactive T-lymphocytes (CD20, IHC, $\times 200$)

**Рисунок 4**

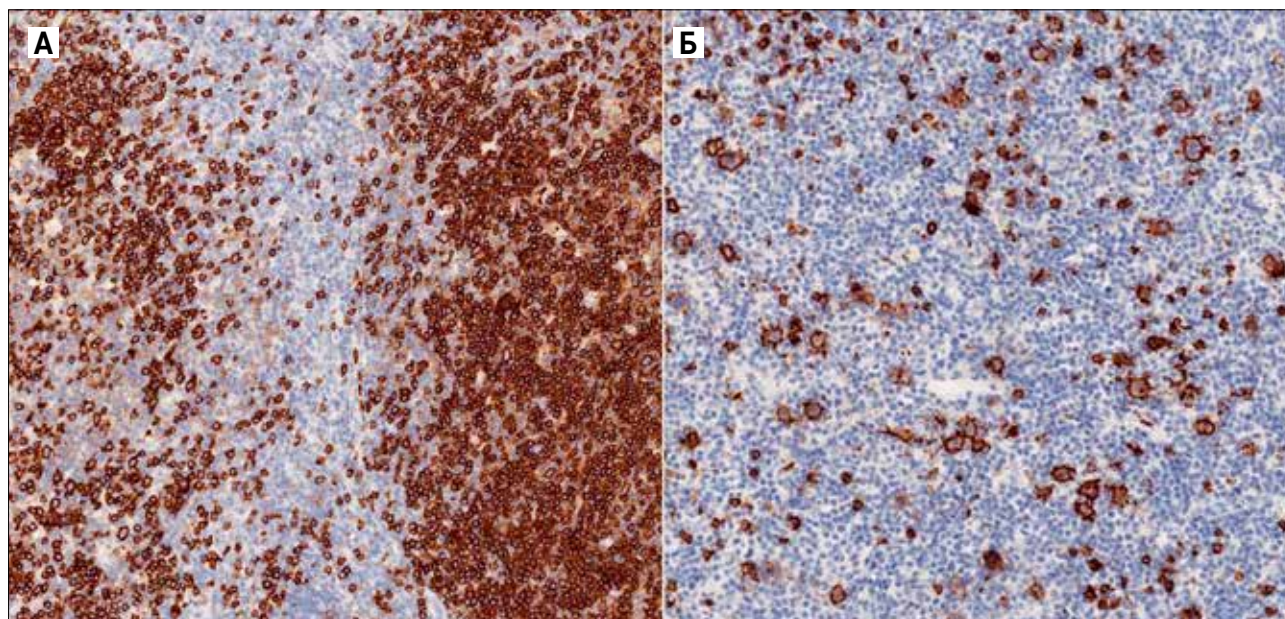
Морфологическая картина смены иммуноархитектурного паттерна на фоне проводимой химиотерапии, ИГХ-исследование к анти-CD20

А – первичная биопсия, паттерн А/В: паттерн А (справа) представлен структурами нодулярного вида, в пределах которых расположены LP-клетки, в паттерне В (слева) отмечается стирание нодулярного строения с тенденцией к диффузному росту, уменьшение числа реактивных В-лимфоцитов с неупорядоченным расположением LP-клеток среди мелких лимфоцитов; Б – рецидив, паттерн Е: выраженная деплеция мелких В-лимфоцитов, крупные CD20-позитивные LP-клетки расположены среди Т-клеточного инфильтрата

Figure 4

A morphological picture revealing a change of immunoarchitectural pattern associated with chemotherapy, CD20 immunohistochemistry

А – primary biopsy, pattern A/B: pattern A (right) is represented by nodular structures within which LP cells are located, pattern B (left) shows erasure of the nodular structure with a tendency to diffuse growth, a decrease in the number of reactive B-lymphocytes with a disordered arrangement of LP cells among small lymphocytes; Б – relapse, pattern E: Low number of small B-lymphocytes, large CD20-positive LP cells located among the T-cells



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе мировой литературы выявлено, что пациенты с НЛХЛП значительно чаще имеют локализованную стадию на момент постановки диагноза, чем пациенты с классической ЛХ. Так, например, в исследовании немецкой группы по изучению ЛХ (GHSg) 63% пациентов с НЛХЛП манифестировали I–II стадией и не имели факторов риска, тогда как в случаях с классической ЛХ ранняя стадия и отсутствие неблагоприятных факторов риска выявлены лишь в 22% случаев [19]. У детей заболевание также выявляется на ранних стадиях. В исследовании Shankar и соавт. среди детской популяции 54 (90%) из 60 человек при инициальном обследовании имели раннюю стадию [2], в исследовании Hall и соавт. – 35 (83%) из 42 [4]. В исследовании Pellegrino и соавт. в 88,9% случаев дети на момент постановки диагноза имели стадию I–II [6]. В нашем исследовании 18 (75%) из 24 пациентов имели стадию I–II. Более высокая частота встречаемости ранних стадий у детей в сравнении с взрослыми, вероятно, обусловлена своевременным обращением в лечебно-профилактическое учреждение по поводу длительно существующей лимфаденопатии, не дожидаясь появления системных симптомов.

В-симптомы редко встречаются у пациентов с НЛХЛП. В исследовании Karayalcin и соавт. В-симптомы на момент инициального обследования обнаружены у 4 (15,4%) из 26 пациентов [15], в работе Hall и соавт. системные симптомы выявлены лишь у 1 (2,4%) пациента с III стадией [4]. Тогда как в исследовании Mauz-Korholz и соавт. В-симптомы не выявлялись ни у одного из 58 пациентов [5], что отличается от данных, полученных в нашем исследовании, где у 4 (16,7%) из 24 больных выявлены В-симптомы при первичном обследовании. Различие полученных данных может быть результатом недостаточного обследования пациентов, у которых также могло быть сопутствующее инфекционное заболевание.

Выявление вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) не является редкостью для классической ЛХ, однако нехарактерно для НЛХЛП. Тем не менее в исследовании Ниртманн и соавт. в когорте из 145 детей выявлено 5 (3,7%) случаев НЛХЛП с наличием ВЭБ [20], но при этом отсутствует информация о первичном иммунном статусе. В нашей когорте ВЭБ-позитивные случаи не выявлены.

Многими исследователями описывается взаимосвязь между видом паттерна и клиническим течением, прогнозом заболевания. Шесть известных паттернов исследователи делят на 2 группы, паттерны А, В относят к типичным паттернам с благоприятным клиническим течением. Остальные – к гистопатоло-

гическим вариантам, которые имеют более распространенную стадию при клинической манифестации, чаще рецидивируют и имеют неблагоприятный прогноз. Между этими 2 группами были выявлены статистически значимые различия [2, 10, 11]. При сравнении 2 групп паттернов в нашем исследовании статистически значимых различий выявлено не было ($p > 0,05$), что, вероятно, обусловлено малой группой пациентов (таблица 1). Единственный пациент с IV стадией и генерализованной лимфаденопатией, множественными поражениями костей и изменениями в общем анализе крови при гистологическом исследовании имел паттерн F.

Самым частым и наиболее благоприятным видом паттерна из 6 описанных является паттерн А, который в исследовании Shankar и соавт. определялся в 47 (78%) из 60 случаев [2]. В нашем исследовании паттерн А выявлен в 16 (52%) из 28 случаев. Среди гистопатологических вариантов в том же исследовании наиболее часто встречался паттерн Е (54%) [2], среди нашей группы пациентов при инициальной биопсии он выявлен не был, наиболее частым вариантом оказался паттерн С ($n = 6$; 54,5%), остальные 5 случаев представлены паттерном F.

В случаях рецидива имеется риск распространения заболевания. Так, в исследовании Hall и соавт. у 2 из 6 пациентов с рецидивом выявлена IV стадия, при инициальном обследовании у одного была установлена IA стадия, у второго – III [4]. В нашем исследовании рецидив возник у 2 пациентов с IA стадией, у одного спустя 2,5 мес после проведенного лечения, у другого через 3 года. Рецидив у первого пациента был представлен IA стадией, а у второго – распространенным процессом с поражением костей, IVB стадия. Стоит отметить, что этим 2 пациентам выполнено хирургическое лечение в объеме эксцизионной биопсии без проведения дополнительной химио- или лучевой терапии. На наш взгляд, развитие столь раннего рецидива в первом случае связано с недостаточным обследованием пациента после установления диагноза. В случае позднего рецидива распространение заболевания может быть связано с несвоевременным оказанием медицинской помощи, так как после выявления увеличенного пахового лимфатического узла справа дальнейшее дообследование и лечение было проведено лишь спустя полгода, когда уже присоединились системные симптомы.

Кроме риска распространения заболевания существует вероятность трансформации НЛХЛП в ДКБКЛ, что описано крайне редко у детей. В исследовании Mauz-Körholz и соавт. среди 58 детей у 1 ребенка с IIIA стадией произошла трансформация НЛХЛП в ДКБКЛ спустя 10 лет от момента постановки инициального диагноза [5]. Группой исследователей под руководством L. Couronne описан случай ребенка

16 лет с генерализованной лимфаденопатией, В-симптомами, поражением средостения и костного мозга. При гистологическом исследовании был установлен диагноз «НЛХЛП с признаками прогрессии в богатую Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ». На фоне проведения консолидирующей терапии возник первый рецидив (морфология, аналогичная при гистологическом исследовании), после проведения аутотрансплантации костного мозга развился второй рецидив с генерализованной лимфаденопатией и поражением костного мозга. Была проведена аллогенная трансплантация костного мозга от неродственного донора, на момент выхода статьи пациент находится в полной ремиссии в течение 29 мес с момента ее проведения [21]. Наличие в биоптате одновременно очагов НЛХЛП и зон диффузного роста ДКБКЛ может служить поводом к рассмотрению этих нозологий в едином ключе, т. е., возможно, ДКБКЛ, в частности богатая Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ, и НЛХЛП являются звеньями одного процесса. В нашем исследовании случаев трансформации выявлено не было, что может быть обусловлено коротким периодом наблюдения после завершения лечения (от 1 до 42 мес). Тем не менее у 1 пациента на фоне проводимой терапии при повторной биопсии выявлена смена паттерна А/В на паттерн Е, который имеет тот же морфологический вид, что и богатая Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ. При проведении генетического исследования клонального состава опухолевого материала 2 разных паттернов не было найдено общих клонов, что может быть объяснено малым количеством опухолевого материала в исследуемом образце при значительном содержании лимфоцитарного микроокружения или появлением соматических гипермутаций в CDR3 (complementarity-determining regions), описанных ранее при зрелоклеточных лимфомах [22, 23]. В

целях достоверного изучения клональной связи 2 опухолей необходимо проведение изолированной микродиссекции опухолевых клеток НЛХЛП 2 образцов для последующего молекулярно-генетического анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования статистически значимых различий между клиническим течением у пациентов с типичными паттернами и вариантами не было выявлено, что, скорее всего, обусловлено малым числом пациентов в выборке. Дальнейшее исследование с увеличением группы пациентов позволит уточнить значение морфологического паттерна для формирования прогностической шкалы и стратификации пациентов на группы в целях выбора оптимального лечения, которых на сегодняшний день для детей с НЛХЛП не существует.

Учитывая то, что при плохом ответе на терапию или рецидиве существует риск перехода паттерна в прогностически более неблагоприятный вариант или ДКБКЛ, рекомендуется проведение повторной эксцизионной биопсии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Senchenko M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9921-5620>

Abramov D.S. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3664-2876>

Nasirdinova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4978-0496>

Volchikov E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2574-1636>

Konovalov D.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7732-8184>

Myakova N.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Литература

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. World Health Organization classification of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2017. Pp. 323–325.
2. Shankar A.G., Kirkwood A.A., Hall G.W., Hayward J., O'Hare P., Ramsay A.D. Childhood and Adolescent nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma – A review of clinical outcome based on the histological variants. Br J Haematol 2015; 171 (2): 254–62. DOI: 10.1111/bjh.13540. Epub 2015 Jun 2.
3. Murphy S.B., Morgan E.R., Katzenstein H.M., Kletzel M. Results of little or no treatment for lymphocyte-predominant Hodgkin disease in children and adolescents. J Pediatr Hematol Oncol 2003; 25 (9): 684–7. DOI: 10.1097/00043426-200309000-00003. PMID: 12972802.
4. Hall G.W., Katzlakis N., Pinkerton C.R., Nicolin G., Ashley S., Shankar A., et al. Outcome of children with nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma – a Children's Cancer and Leukaemia Group report. Br J Haematol 2007; 138 (6): 761–8. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06736.x
5. Mauz-Körholz C., Gorde-Grosjean S., Hasenclever D., Shankar A., Dörffel W., et al. Resection alone in 58 children with limited stage, lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma-experience from the European network group on pediatric Hodgkin lymphoma. Cancer 2007; 110 (1): 179–85.
6. Pellegrino B., Terrier-Lacombe M.J., Oberlin O., Leblanc T., Perel Y., Bertrand Y., et al. Study of the French Society of Pediatric Oncology. Lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma in children: therapeutic abstention after initial

- lymph node resection--a Study of the French Society of Pediatric Oncology. *J Clin Oncol* 2003; 21 (15): 2948–52.
7. Mauz-Körholz C., Lange T., Hasenclever D., Burkhardt B., Feller A.C., Körholz D., et al. Pediatric Nodular Lymphocyte-predominant Hodgkin Lymphoma: Treatment Recommendations of the GPOH-HD Study Group. *Klin Padiatr* 2015; 227 (6–7): 314–21.
 8. Shankar A., Hall G.W., Gorde-Grosjean S., Hasenclever D., Leblanc T., Hayward J., et al. Treatment outcome after low intensity chemotherapy [CVP] in children and adolescents with early stage nodular lymphocyte predominant Hodgkin's lymphoma - an Anglo-French collaborative report. *Eur J Cancer* 2012; 48 (11): 1700–6.
 9. Shankar A.G., Kirkwood A.A., Depani S., Bianchi E., Hayward J., Hall G.W., et al. Relapsed or poorly responsive nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma in children and adolescents – a report from the United Kingdom's Children's Cancer and Leukaemia Study Group. *Br J Haematol* 2016; 173 (3): 1–31.
 10. Hartmann S., Eichenauer D.A., Plütschow A., Mottok A., Bob R., Klapper W. The prognostic impact of variant histology in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma: a report from the German Hodgkin Study Group (GHSg). *Blood* 2013; 122 (26): 4246–52; quiz 4292. DOI: 10.1182/blood-2013-07-515825. Epub 2013 Oct 7.
 11. Fan Z., Natkunam Y., Bair E., Tibshirani R., Warnke R.A. Characterization of variant patterns of nodular lymphocyte predominant hodgkin lymphoma with immunohistologic and clinical correlation. *Am J Surg Pathol* 2003; 27 (10): 1346–56. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318165b0d6
 12. Gloghini A., Bosco A., Ponzoni M., Spina M., Carbone A. Immunoarchitectural patterns in nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma: pathologic and clinical implications. *Expert Rev Hematol* 2015; 8 (2): 217–23.
 13. Nam-Cha S.H., Roncador G., Sanchez-Verde L., Montes-Moreno S., Acevedo A., Domínguez-Franjo P., et al. PD-1, a follicular T-cell marker useful for recognizing nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2008; 32 (8): 1252–7. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318165b0d6. PMID: 18594468.
 14. Churchill H.R., Roncador G., Warnke R.A., Natkunam Y. Programmed death 1 expression in variant immunoarchitectural patterns of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma: comparison with CD57 and lymphomas in the differential diagnosis. *Hum Pathol* 2010; 41 (12): 1726–34. DOI: 10.1016/j.humpath.2010.05.010. Epub 2010 Sep 9. PMID: 20825974.
 15. Karayalcin G., Behm F.G., Gieser P.W., Kung F., Weiner M., Murphy S.B., et al. Lymphocyte predominant Hodgkin disease: clinico-pathologic features and results of treatment – the Pediatric Oncology Group experience. *Med Pediatr Oncol* 1997; 29 (6): 519–25. DOI: 10.1002/(sici)1096-911x(199712)29:6<519::aid-mpo1>3.0.co;2-n
 16. Biasoli I., Stamatoullas A., Meignin V., Delmer A., Reman O., Morschhauser F., et al. Nodular, lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma: a long-term study and analysis of transformation to diffuse large B-cell lymphoma in a cohort of 164 patients from the Adult Lymphoma Study Group. *Cancer* 2010; 116 (3): 631–9. DOI: 10.1002/cncr.24819
 17. Xing K.H., Connors J.M., Mansour M.A., Gascoyne R.D. The outcome of advanced stage nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL) compared to classical Hodgkin lymphoma (CHL): a matched pair analysis. *ASH Annual Meeting 2012 (abstract 1531)*.
 18. Комков А.Ю., Мирошниченко А.М., Ольшанская Ю.В., Мякова Н.В., Дьяконова Ю.Ю., Минервина А.А. и др. Детекция перестроек иммуноглобулиновых генов при острых лимфобластных лейкозах с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения. *Гематология и трансфузиология* 2016; 61 (4): 200–4.
 19. Nogová L., Reineke T., Josting A., Müller-Hermelink H.K., Eich H.T., Behringer K., et al. Lymphocyte-predominant and classical Hodgkin's lymphoma--comparison of outcomes. *Eur J Haematol Suppl* 2005; (66): 106–10. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2005.00462.x. PMID: 16007877.
 20. Huppmann A.R., Nicolae A., Slack G.W., Pittaluga S., Davies-Hill T., Ferry J.A., et al. EBV may be expressed in the LP cells of nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL) in both children and adults. *Am J Surg Pathol* 2014; 38 (3): 316–24. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000107
 21. Couronné L., Schneider P., Picquet J.M., Laberge S., Bastard C., Vanier J.P. Refractory nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma transformed to T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma in an adolescent: salvage therapy with allogeneic bone marrow transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008; 30 (12): 959–62. DOI: 10.1097/MPH.0b013e31818a9564. PMID: 19131792.
 22. Xu-Monette Z.Y., Li J., Xia Y., Crossley B., Bremel R.D., Young K.H., et al. Immunoglobulin somatic hypermutation has clinical impact in DLBCL and potential implications for immune check point blockade and neoantigen-based immunotherapies. *J Immunother Cancer* 2019; 7 (1): 272. DOI: 10.1186/s40425-019-0730-x. PMID: 31640780; PMCID: PMC6806565.
 23. Dunn-Walters D., Thiede C., Alpen B., Spencer J. Somatic hypermutation and B-cell lymphoma. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; 356 (1405): 73–82. DOI: 10.1098/rstb.2000.0751. PMID: 11205334; PMCID: PMC1087694.

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-121-132

Результаты мультицентрового лечения атипичной тератоид-рабдоидной опухоли центральной нервной системы у детей до 3 лет

Л.В. Ольхова¹, О.Г. Желудкова², Л.С. Зубаровская³, А.Ю. Смирнова⁴, Ю.В. Диникина^{4,5}, Ю.В. Кушель⁶, А.Г. Меликян⁶, С.К. Горелышев⁶, М.В. Рыжова⁶, Ю.Ю. Трунин⁶, Е.И. Шульц⁶, А.Г. Геворгян³, С.В. Горбатов⁷, А.Н. Кисляков⁷, В.Е. Попов⁸, Л.П. Привалова⁹, Н.Б. Юдина¹⁰, Е.М. Тарасова¹, Д.Н. Погорелов¹¹, О.Б. Полушкина², А.С. Левашов¹², Н.А. Воробьев¹³⁻¹⁵, Н.А. Плахотина¹³, Н.И. Мартынова¹³, Т.Ю. Скворцова¹⁶, А.Н. Зайчиков¹⁷, М.В. Мушинская¹⁸, Д.Л. Сакун¹⁹, Л.М. Минкина²⁰, Т.В. Лукина¹³, Е.В. Щепкина²¹, А.Г. Коршунов²²

¹Российская детская клиническая больница ФГАУ ВО «Российский национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

²ГБУЗ г. Москвы «Научно-практический центр специализированной медицинской помощи им. В.Ф. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

³Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

⁵ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

⁶ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н. Н. Бурденко» Минздрава России, Москва

⁷ГБУЗ г. Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

⁸ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва

⁹ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница», Нижний Новгород

¹⁰ГБУЗ ВО «Воронежская областная детская клиническая больница №1», Воронеж

¹¹ГБУЗ «Областная детская больница» Минздрава России, Липецк

¹²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

¹³ОО «Лечебно-диагностический центр Международного института биологических систем им. Сергея Березина», Санкт-Петербург

¹⁴ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

¹⁵ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

¹⁶ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева Российской академии наук, Санкт-Петербург

¹⁷ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница №1», Екатеринбург

¹⁸Детский онкогематологический центр им. Ф.П. Газа ГБУЗ ПК «Краевая детская клиническая больница», Пермь

¹⁹ГБУЗ РК «Республиканская детская клиническая больница», Симферополь

²⁰ГБУЗ «Краевая детская клиническая больница №1», Владивосток

²¹ОО «Техдепартамент», Московская область, Химки

²²German Cancer Research Center (DKFZ), Германия, Гейдельберг

Атипичная тератоид-рабдоидная опухоль (АТРО) центральной нервной системы (ЦНС) – это агрессивная злокачественная опухоль, встречается преимущественно у детей младшего возраста и имеет плохой прогноз. Цель работы: продемонстрировать результаты лечения детей с АТРО ЦНС в возрасте младше 3 лет и определить влияние на выживаемость различных факторов прогноза. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. В исследование включены 106 больных с АТРО ЦНС в возрасте от 0 до 3 лет, которые получали лечение и наблюдались с 2008 по 2020 г. Медиана возраста составила 16 (9; 23) месяцев. Всем пациентам на первом этапе была выполнена резекция опухоли, затем они получали химиолучевую терапию по различным протоколам. На момент проведения анализа живы 47 (44,4%), выбыл из наблюдения 1 (0,9%), умерли 58 (54,7%) больных, из них 52 (90%) от прогрессирования болезни и 6 (10%) от осложнений полихимиотерапии. У 1 пациентки отмечено развитие шунт-ассоциированного интраабдоминального метастазирования в брюшную полость в течение 10 мес с момента постановки диагноза. Выживаемость без прогрессирования (ВБП) составила: 1-летняя 0,50; 2-летняя 0,29; 5-летняя 0,27. Медиана ВБП болезни – 12 мес. Общая выживаемость (ОВ) составила: 1-летняя 0,72; 2-летняя 0,53; 5-летняя 0,40. Медиана ОВ – 27 мес. При анализе выборки пациентов с АТРО ЦНС младше 3 лет в нашем исследовании ВБП статистически значимо была выше у детей старше 12 месяцев, с тотальной резекцией

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 17.02.2021
Принята к печати 15.03.2021

Контактная информация:

Ольхова Людмила Владимировна, врач-детский онколог отделения трансплантации костного мозга Российской детской клинической больницы ФГАУ ВО РНМИУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, Ленинский проспект, 117
E-mail: rylkova87@mail.ru

опухоли, получивших полихимиотерапию по протоколу АТРО-2006 с включением лучевой терапии и регионарным введением триплета химиопрепаратов. ОВ среди пациентов с АТРО ЦНС младше 3 лет была статистически значимо выше у детей старше 12 месяцев, при проведении лучевой терапии, интратекальном/интравентрикулярном введении цитозара/этопозиде, при проведении высокодозной химиотерапии с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. При многофакторном анализе на ВБП влияли возраст, локализация опухоли, объем резекции, проведение лучевой терапии, регионарной химиотерапии, высокодозной химиотерапии с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток; на ОВ – возраст и проведение лучевой терапии.

Ключевые слова: дети, младший возраст, атипичная тератоид-рабдоидная опухоль центральной нервной системы, высокодозная химиотерапия, химиотерапия, лучевая терапия, результаты лечения

Ольхова Л.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 121–132. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-121-132

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 17.02.2021

Accepted 15.03.2021

The results of multicenter treatment of atypical teratoid/rhabdoid tumors of the central nervous system in children under 3 years

L.V. Olkhova¹, O.G. Zheludkova², L.S. Zubarovskaya³, A.Yu. Smirnova⁴, Yu.V. Dinikina^{4,5}, Yu.V. Kushel⁶, A.G. Melikyan⁶, S.K. Gorelyshev⁶, M.V. Ryzhova⁶, Yu.Yu. Trunin⁶, E.I. Shults⁶, A.G. Gevorgyan³, S.V. Gorbatykh⁷, A.N. Kislyakov⁷, V.E. Popov⁸, L.P. Privalova⁹, N.B. Yudina¹⁰, E.M. Tarasova¹, D.N. Pogorelov¹¹, O.B. Polushkina², A.S. Levashov¹², N.A. Vorobyov¹³⁻¹⁵, N.A. Plakhotina¹³, N.I. Martynova¹³, T.Yu. Skvortsova¹⁶, A.N. Zaychikov¹⁷, M.V. Mushinskaya¹⁸, D.L. Sakun¹⁹, L.M. Minkina²⁰, T.V. Lukina¹³, E.V. Shchepkina²¹, A.G. Korshunov²²

¹Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²V.F. Voino-Yasenetskiy Scientific and Practical Center of Specialized Healthcare for Children of the Department of Health of Moscow, Moscow

³R.M. Gorbacheva Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

⁴V.A. Almazov National Medical Research Centre of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

⁵Saint Petersburg State Pediatric Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

⁶N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

⁷Morozov Children's City Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow

⁸M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow

⁹Nizhny Novgorod Regional Children's Hospital, Nizhny Novgorod

¹⁰Voronezh Regional Children's Clinical Hospital No. 1, Voronezh

¹¹Regional Children's Hospital of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Lipetsk

¹²N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

¹³Diagnostic and Treatment Center of the Sergey Berezin International Institute of Biological Systems, Saint Petersburg

¹⁴Saint Petersburg State University, Saint Petersburg

¹⁵I.I. Mechnikov North-Western State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

¹⁶N.P. Bekhtereva Institute of the Human Brain, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg

¹⁷Regional Children's Clinical Hospital No.1, Yekaterinburg

¹⁸F.P. Haass Center of Pediatric Oncology and Hematology, Regional Children's Clinical Hospital, Perm

¹⁹Republican Children's Clinical Hospital, Simferopol

²⁰Regional Children's Clinical Hospital No. 1, Vladivostok

²¹Techdepartament, Moscow Region, Khimki

²²German Cancer Research Center (DKFZ), Heidelberg, Germany

Correspondence:

Lyudmila V. Olkhova,

a pediatric oncologist at the Department of Bone Marrow Transplantation of the Russian Children's Clinical Hospital, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Address: 117 Leninskiy Prospekt,

Moscow 117997, Russia

E-mail: rylkova87@mail.ru

Atypical teratoid/rhabdoid tumor (AT/RT) of the central nervous system (CNS) is an aggressive malignant tumor that is mainly found in younger children and is associated with poor prognosis. Our objectives: to present the results of treatment of children with CNS AT/RT under 3 years of age and assess the impact of various prognostic factors on patient survival. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. The study included 106 patients with CNS AT/RT aged 0–3 years who had been treated and monitored from 2008 to 2020. The median age was 16 (9; 23) months. All the patients underwent primary tumor resection with subsequent chemotherapy according to various protocols. At the time of the analysis, 47 patients (44.4%) were alive, 1 patient (0.9%) was lost to follow-up and 58 patients (54.7%) were dead, of whom 52 patients (90%) had died of disease progression and 6 (10%) – of polychemotherapy complications. One patient developed shunt-related intra-abdominal metastasis within 10 months of the diagnosis. The 1-year progression-free survival (PFS) was 0.50; the 2-year PFS was 0.29; the 5-year PFS – 0.27. The median PFS was 12 months. The 1-year overall survival (OS) was 0.72; the 2-year OS was 0.53; the 5-year OS – 0.40. The median OS was 27 months. An analysis of patients with CNS AT/RT under 3 years of age showed that PFS was statistically significantly higher in: children aged > 12 months; children with totally resected tumours; children who had received polychemotherapy in accordance with the ATRT-2006 protocol that included radiotherapy and regional administration of a triplet of chemotherapeutic agents. The OS in patients with CNS AT/RT aged < 3 years was statistically significantly higher in: children aged > 12 months; children who had been treated with radiation therapy; patients who had received cytosar/etoposide intrathecally/intraventricularly; patients who had undergone high-dose chemotherapy with subsequent autologous hematopoietic stem cell transplantation. A multivariate analysis revealed that PFS was influenced by age, tumor location, extent of resection and exposure to radiation therapy, regional chemotherapy or high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation, while OS was affected by age and exposure to radiation therapy.

Key words: children, younger age, atypical teratoid/rhabdoid tumor of the central nervous system, high-dose chemotherapy, chemotherapy, radiation therapy, treatment results

Olkhova L.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 121–132.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-121-132

Атипичная тератоид-рабдоидная опухоль (АТРО) центральной нервной системы (ЦНС) – агрессивная злокачественная опухоль, составляющая 1–2% всех опухолей головного и спинного мозга у детей [1, 2]. Более 80% АТРО ЦНС диагности-

руются в возрасте младше 3 лет, медиана возраста на момент постановки диагноза составляет 1 год, мальчики болеют несколько чаще девочек, соотношение 1,5:1,3 [3–5]. По результатам проведенных ретроспективных исследований, младший возраст паци-

ентов является неблагоприятным прогностическим фактором [1, 6–8]. В связи с этим стоит подчеркнуть, что у детей в возрасте младше 3 лет чаще диагностируются случаи метастатического поражения структур ЦНС на момент постановки диагноза, имеет место прогностически неблагоприятное влияние синдромов генетической предрасположенности и ограничено проведение лучевой терапии [1, 9, 10]. Поскольку в настоящее время нет единых стандартов лечения АТРО ЦНС, подходы в терапии широко варьируются в зависимости от страны и учреждения. Высокодозная полихимиотерапия (ВДХТ) с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) используется у пациентов младше 3 лет для возможного исключения или отсрочки проведения лучевой терапии (ЛТ) в целях улучшения результатов терапии и минимизации последующих долгосрочных нейрокогнитивных нарушений [11–13]. Несмотря на проводимую высокоинтенсивную мульти-модальную терапию, у большинства пациентов с АТРО выявляется прогрессирование болезни или рецидив [6, 12, 13]. Прогноз пациентов младшего возраста с АТРО остается неблагоприятным, особенно при наличии остаточной опухоли или метастазов. По данным недавних международных исследований 3-летняя общая выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессирования (ВБП) в возрастной группе до 3 лет составляют 38,1% и 28,5% соответственно [12]. Это определяет необходимость оптимизации терапии детей с АТРО ЦНС младшей возрастной группы.

Цель исследования: оценить результаты лечения детей с АТРО ЦНС в возрасте младше 3 лет и определить влияние на выживаемость различных факторов прогноза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России.

План (дизайн) исследования

В условиях специализированных отделений федеральных центров (НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, НМИЦ им. В.А. Алмазова, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Российская детская клиническая больница, Медицинский институт им. Сергея Березина), в учреждениях Департамента здравоохранения г. Москвы (НПЦ специализированной медицинской помощи детям им. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Морозовская детская городская клиническая больница), а также многопрофильных стационарах

различных регионов Российской Федерации (РФ) с 2008 по 2020 г. проведено ретроспективное много-центровое (в 9 регионах РФ) сплошное сравнительное исследование.

Критерии соответствия

В исследование включены 106 пациентов в возрасте от 0 до 3 лет с гистологически подтвержденным диагнозом АТРО ЦНС, которые получали комплексное лечение по различным протоколам терапии. Из анализа были исключены пациенты, получившие только оперативное лечение без химио-лучевой терапии.

Выборка

Минимальный объем выборки при уровне значимости 10% для сохранения статистической мощности в 80% составляет 97 участников. Выборка в 106 пациентов является достаточной для того, чтобы выявить различия в оценке отдельных показателей.

Методы

Статистический анализ. Сбор данных, их последующая коррекция, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel (2016). Статистическая обработка результатов проводилась средствами языка Питон (Python 3.8.). Для расчетов были использованы встроенные функции из модулей Scipy и Lifelines.

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро–Уилка. Проверка на нормальность распределения показала, что данные в исследовании не имеют нормального распределения, поэтому в дальнейшем расчеты производились методами непараметрической статистики.

В качестве центра распределения была посчитана медиана (Me), а в качестве показателей вариации – квартили (Q1; Q3) и размах вариации (min–max). Для сравнения несвязанных выборок в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U-критерий Манна–Уитни. Результаты качественных признаков выражены в абсолютных числах с указанием долей (%). Сравнение номинальных данных в независимых группах проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона.

Функция выживаемости и кумулятивная вероятность анализируемого события рассчитана по методу Каплана–Майера, сравнение функции выживаемости выполняли при помощи критериев Log Rank. Многофакторный анализ выживаемости проводился на основе построения регрессионной модели Кокса (Cox regression) – модель зависимости функции риска от независимых переменных-факторов. Методом

регрессионного оценивания был выбран Backward (пошаговое исключение). Метод Backward стартует с максимального набора предикторов. Затем на каждом шаге из модели исключается наименее полезный из предикторов. Процедура останавливается, когда из модели больше нечего удалять, остались только хорошо объясняющие функцию риска независимые переменные.

Статистически значимыми считались различия при $p \leq 0,05$.

Пациенты, живущие на момент анализа данных, цензурированы 01.12.2020. Больные, выбывшие из наблюдения, цензурированы днем последнего контакта с ними. При расчете ОВ учитывалось время от момента операции до даты смерти от любой причины для умерших больных и до даты окончания наблюдения для живых. При расчете ВБП учитывалось время от даты операции до даты неблагоприятного события (смерть, рецидив, прогрессирование болезни) для пациентов, у которых оно произошло, либо до даты окончания наблюдения для больных, у которых оно не произошло.

Материалы

В исследование включены 106 пациентов из различных регионов РФ в возрасте от 0 до 3 лет на момент постановки диагноза (медиана возраста составила 16 (9; 23) месяцев), у которых гистологически была верифицирована АТРО ЦНС, получавших комплексное лечение и наблюдавшихся в период с 2008 по 2020 г. Из анализа были исключены пациенты, получившие только оперативное лечение без химиолучевой терапии. Произведена оценка результатов лечения пациентов с АТРО в зависимости от пола, возраста, локализации опухоли и ее распространения, объема оперативного вмешательства, протокола химиотерапии (ХТ), проведения ЛТ и интратекальной/интравентрикулярной ХТ, проведения ВДХТ с ауто-ТГСК.

В зависимости от возраста на момент диагностики пациенты были разделены на 2 группы: группу до 12 месяцев составил 41 (38,7%) больной, старше 12 месяцев – 65 (61,3%). В соотношении по полу мальчики незначительно преобладали над девочками: 54 (50,9%) и 52 (49,1%) соответственно. Опухоль у 58 (54,7%) пациентов локализовалась инфратенториально, у 46 (43,4%) – супратенториально и у 2 (1,9%) – в спинном мозге. У всех пациентов инициально выполнено хирургическое лечение в различных объемах: тотальное удаление опухоли – 27 (25,5%), субтотальное – 33 (31,1%), частичное – 42 (39,6%), биопсия – 4 (3,8%). В анализируемой группе преобладали больные с М0-стадией заболевания – 57 пациентов (53,8%), у 36 (34%) выявлена стадия М+ или мультифокальная опухоль, у 13 (12,2%) человек стадия заболевания не уточнена (Мх). Все пациенты

после удаления опухоли получали специфическое лечение. Большинство пациентов ($n = 67$, 63,2%) получили химиолучевое лечение по протоколу АТРО-2006, 15 (14,1%) – по протоколу MUV-ATRT, 3 (2,8%) – по протоколу CWS, 9 (8,5%) – по протоколу EU-RHAB, 6 (5,7%) – по протоколу HIT-SKK, у 6 (5,7%) больных выполняли индивидуальные схемы терапии. ЛТ проведена 59 больным: локальная – 52 (49,1%) детям, краниоспинальное облучение – 7 (6,6%). Интратекальное/интравентрикулярное введение химиопрепаратов проводили в большинстве случаев ($n = 91$, 85,8%): метотрексата, цитозара, преднизолона – 67 (63,2%) пациентам, метотрексата – 8 (7,5%). ВДХТ с последующей ауто-ТГСК проведена 12 (11,3%) пациентам.

Инициальные характеристики пациентов, включенных в исследование, представлены в таблице 1.

Таблица 1
Инициальные характеристики пациентов с АТРО ЦНС в возрасте до 3 лет, включенных в исследование ($n = 106$)

Table 1
The initial characteristics of study subjects with CNS AT/RT aged < 3 years ($n = 106$)

Показатель Parameter	Значение Value	
	Абс. Abs.	%
1	2	3
Пол Gender		
Мужской Male	54	50,9
Женский Female	52	49,1
Возраст на момент постановки диагноза Age at the diagnosis		
Младше 12 месяцев Under 12 months	41	38,7
Старше 12 месяцев Over 12 months	65	61,3
Разброс (min–max), месяцы Range (min–max), months	1–35	
Медиана, месяцы Median, months	16 (9; 23)	
Локализация опухоли Tumor location		
Инфратенториальная Infratentorial	58	54,7
Супратенториальная Supratentorial	46	43,4
Спинной мозг Spinal cord	2	1,9
Стадия заболевания Stage of the disease		
M0	57	53,8
M+ или мультифокальная опухоль M+ or multifocal tumor	36	34,0
Mx	13	12,2
Объем резекции опухоли Extent of resection		
Тотальная резекция Total resection	27	25,5
Субтотальная резекция Subtotal resection	33	31,1
Частичная резекция Partial resection	42	39,6
Биопсия Biopsy	4	3,8

1	2	3
Протокол ХТ Chemotherapy protocol		
АТРО-2006 ATRT-2006	67	63,2
MUV-ATRT	15	14,1
EU-RHAB	9	8,5
HIT-SKK	6	5,7
CWS	3	2,8
Индивидуальные схемы терапии Tailored regimens	6	5,7
ЛТ Radiation therapy		
Локальная Local	52	49,1
Краниоспинальное облучение Craniospinal radiation	7	6,6
Не проводилась Not administered	47	44,3
Инtrateкальная/интравентрикулярная ХТ Intrathecal/intraventricular chemotherapy		
Метотрексат, цитозар, преднизолон Methotrexate, cytosar, prednisolone	67	63,2
Метотрексат Methotrexate	8	7,5
Цитозар, этопозид Cytosar, etoposide	16	15,1
Не проводилась Not administered	15	14,2
ВДХТ High-dose chemotherapy		
Проводилась Administered	12	11,3
Не проводилась Not administered	94	88,7

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На момент проведения анализа 01.12.2020 живы 47 (44,4%), выбыл из наблюдения 1 (0,9%), умерли 58 (54,7%) больных, из них 52 (90%) от прогрессирования болезни и 6 (10%) от осложнений полихимиотерапии. Развития вторичных опухолей в этой группе больных отмечено не было. У 1 пациентки отмечено развитие экстракраниального шунт-ассоциированного интраабдоминального метастазирования в течение 10 мес с момента постановки диагноза [14].

С помощью статистического анализа всей группы ($n = 106$) было установлено, что ВБП составила: 1-летняя 0,50 (0,40; 0,59), 2-летняя 0,29 (0,20; 0,38), 5-летняя 0,27 (0,18; 0,37). Медиана ВБП – 12 (9; 17) (1–108) мес (рисунок 1А). ОВ составила: 1-летняя 0,72 (0,63; 0,80), 2-летняя 0,53 (0,42; 0,62), 5-летняя 0,40 (0,29; 0,50). Медиана ОВ составила 27 (18; 38) (1–108) мес (рисунок 1Б).

В целях улучшения результатов лечения и их оптимизации были проанализированы результаты терапии пациентов с АТРО в зависимости от следующих факторов: применение различных методов лечения (оперативное вмешательство, ХТ, ЛТ), возраст пациентов, пол, локализация и распространенность опухоли, объем оперативного вмешательства, объем ЛТ, протокол проведенной

полихимиотерапии. Результаты анализа представлены в таблице 2.

По результатам статистического анализа выявлено статистически значимое влияние на ВБП возраста пациентов на момент постановки диагноза, объема резекции, протокола ХТ, проведения ЛТ, интратекальной/интравентрикулярной ХТ, графики выживаемости представлены на рисунке 2.

ВБП у пациентов с АТРО ЦНС младше 3 лет была статистически значимо выше:

– у детей старше 12 месяцев в сравнении с младшей возрастной группой: 0,33 (0,21; 0,46) и 0,17 (0,07; 0,33) соответственно, $p = 0,0047$ (рисунок 2А);

– при тотальном удалении опухоли по сравнению с субтотальной резекцией, частичным удалением и биопсией опухоли – 0,51 (0,30; 0,68); 0,29 (0,14; 0,46); 0,09 (0,02; 0,23); 0,00 (0,00; 0,00) соответственно, $p = 0,025$ (рисунок 2Б);

– у детей, получавших ХТ по протоколу АТРО-2006 и индивидуальным схемам терапии, – 0,33 (0,21; 0,46); 0,33 (0,05; 0,68) соответственно, $p = 0,0020$ (рисунок 2В);

– при проведении краниоспинального и локального облучения, чем при отсутствии ЛТ – 0,67 (0,19; 0,90), 0,42 (0,27; 0,56) и 0,00 (0,00; 0,00) соответственно, $p < 0,001$ (рисунок 2Г);

Рисунок 1
ВБП (А) и ОВ (Б) пациентов с АТРО в возрасте до 3 лет

Figure 1
Progression-free survival (PFS) (A) and overall survival (OS) (B) of the patients with AT/RT under 3 years of age

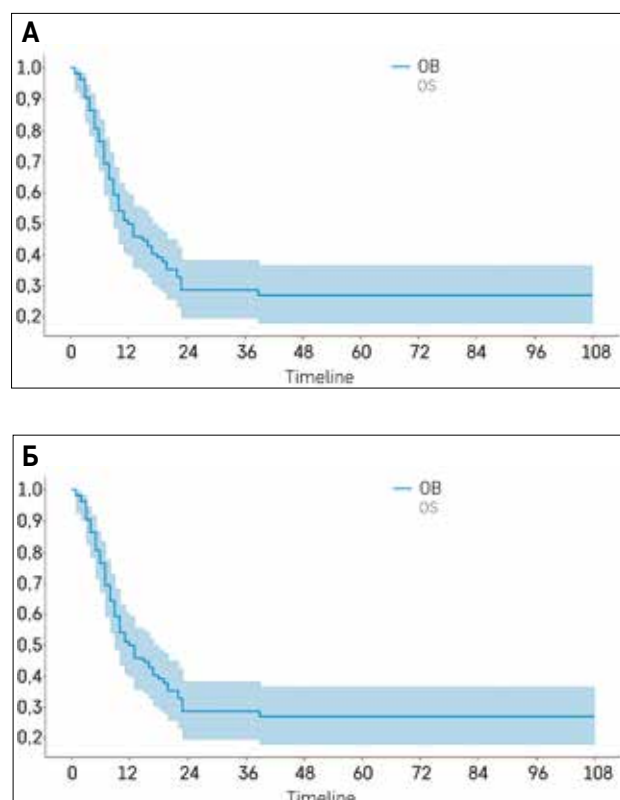


Таблица 2

Результаты лечения детей с АТРО младше 3 лет в зависимости от различных факторов

Table 2

The results of treatment of the children with AT/RT aged < 3 years according to various factors

Факторы Factors	ВБП PFS			ОВ OS		
	Медиана вероятности выживаемости (95% ДИ) Median survival probability (95% CI)	Медиана времени, мес (95% ДИ) Median time, mo (95% CI)	Log Rank, p	Медиана вероятности выживаемости (95% ДИ) Median survival probability (95% CI)	Медиана времени, мес (95% ДИ) Median time, mo. (95% CI)	Log Rank, p
Пол: Gender: мужской (n = 54) male (n = 54) женский (n = 52) female (n = 52)	0,23 (0,13; 0,39) 0,29 (0,17; 0,43)	11 (9; 13) 17 (8; 22)	0,5061	0,24 (0,07; 0,47) 0,44 (0,30; 0,58)	20 (14; 70) 32 (23; –)	0,1637
Возраст: Age: младше 12 месяцев (n = 41) under 12 months (n = 41) старше 12 месяцев (n = 65) over 12 months (n = 65)	0,17 (0,07; 0,33) 0,33 (0,21; 0,46)	8 (7; 10) 19 (11; 23)	0,0047	0,24 (0,11; 0,40) 0,44 (0,29; 0,59)	13 (10; 20) 38 (25; –)	0,0004
Локализация опухоли: Tumor location: инфратенториальная (n = 58) infratentorial (n = 58) супратенториальная (n = 46) supratentorial (n = 46) спинной мозг (n = 2) spinal cord (n = 2)	0,28 (0,16; 0,40) 0,24 (0,11; 0,40) 1,00 (1,00; 1,00)	10 (8; 20) 13 (9; 20) –	0,4828	0,40 (0,24; 0,55) 0,30 (0,16; 0,46) 0,50 (0,01; 0,91)	32 (23; –) 20 (13; 30) 1 (1; –)	0,4111
Стадия заболевания: Stage of the disease: M0 (n = 57) M+ или мультифокальная опухоль (n = 36) M+ or multifocal tumor (n = 36) Mx (n = 13)	0,31 (0,18; 0,45) 0,21 (0,09; 0,36) 0,25 (0,06; 0,51)	16 (11; 23) 8 (5; 17) 8 (5; 8)	0,0727	0,39 (0,22; 0,56) 0,32 (0,17; 0,48) 0,35 (0,11; 0,60)	30 (24; –) 14 (9; 32) 18 (9; –)	0,0995
Объем резекции опухоли: Extent of resection: тотальная резекция (n = 26) total resection (n = 26) субтотальная резекция (n = 33) subtotal resection (n = 33) частичная резекция (n = 43) partial resection (n = 43) биопсия (n = 4) biopsy (n = 4)	0,51 (0,30; 0,68) 0,29 (0,14; 0,46) 0,09 (0,02; 0,23) 0,00 (0,00; 0,00)	– (8; –) 13 (9; 39) 9 (7; 16) 10 (7; 13)	0,0324	0,62 (0,38; 0,78) 0,31 (0,14; 0,50) 0,27 (0,12; 0,45) 0,25 (0,01; 0,67)	– (20; –) 25 (15; 70) 18 (11; 32) 10 (2; –)	0,0848
Протокол ХТ: Chemotherapy protocol: АТРО-2006 (n = 67) ATRO-2006 (n = 67) CWS (n = 3) HIT-SKK (n = 6) EU-RHAB (n = 9) индивидуальные схемы терапии (n = 6) tailored regimens (n = 6) MUV-ATRT (n = 15)	0,33 (0,21; 0,46) 0,00 (0,00; 0,00) 0,00 (0,00; 0,00) 0,11 (0,01; 0,39) 0,33 (0,05; 0,68) 0,26 (0,05; 0,55)	17 (10; 23) 4 (4; 10) 6 (2; 23) 9 (2; 15) 13 (3; –) 18 (3; –)	0,0020	0,39 (0,24; 0,53) 0,00 (0,00; 0,00) 0,33 (0,05; 0,68) 0,22 (0,03; 0,51) 0,44 (0,07; 0,78) 0,54 (0,17; 0,81)	29 (18; –) 5 (5; 23) 38 (8; –) 18 (4; –) 17 (14; –) – (6; –)	0,1663
Лучевая терапия: Radiation therapy: локальная (n = 52) local (n = 52) краниоспинальное облучение (n = 7) craniospinal radiation (n = 7) не проводилась (n = 47) not administered (n = 47)	0,42 (0,27; 0,56) 0,67 (0,19; 0,90) 0,00 (0,00; 0,00)	22 (16; –) – (19; –) 6 (5; 7)	< 0,001	0,50 (0,29; 0,68) 0,80 (0,20; 0,97) 0,13 (0,05; 0,26)	– (29; –) – (32; –) 11 (9; 14)	< 0,001
Инtrateкальная/интравентрикулярная химиотерапия: Intrathecal/intraventricular chemotherapy: метотрексат, цитозар, преднизолон (n = 67) methotrexate, cytosar, prednisolone (n = 67) метотрексат (n = 8) methotrexate (n = 8) не проводилось (n = 15) not administered (n = 15) цитозар, этопозид (n = 16) cytosar, etoposide (n = 16)	0,34 (0,22; 0,46) 0,00 (0,00; 0,00) 0,08 (0,01; 0,29) 0,27 (0,05; 0,57)	17 (10; 23) 12 (3; 15) 5 (3; 9) 18 (6; –)	0,0002	0,40 (0,25; 0,54) 0,15 (0,01; 0,50) 0,20 (0,04; 0,42) 0,56 (0,18; 0,82)	30 (20; –) 25 (11; 38) 13 (4; 18) – (12; –)	0,0408
ВДХТ: High-dose chemotherapy: проводилось (n = 12) administered (n = 12) не проводилось (n = 94) not administered (n = 94)	0,23 (0,01; 0,60) 0,26 (0,17; 0,36)	23 (18; –) 10 (8; 13)	0,0546	0,60 (0,20; 0,85) 0,34 (0,23; 0,45)	– (25; –) 23 (15; 30)	0,0328

Примечание. ДИ – доверительный интервал.
Notes. CI – confidence interval.

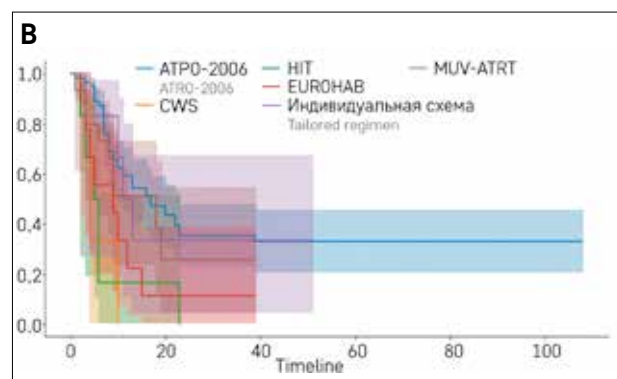
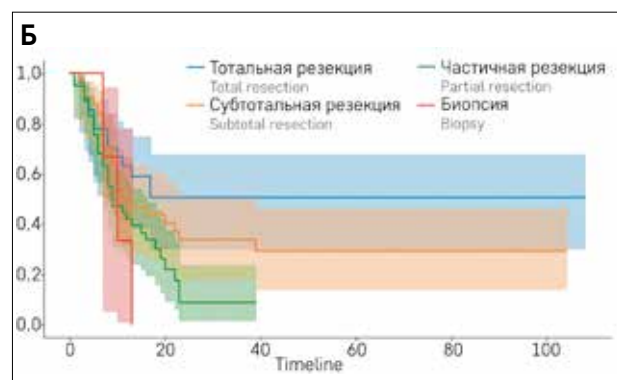
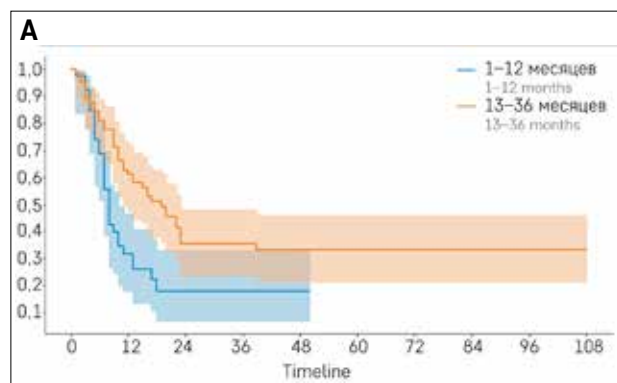
– при интратекально/интравентрикулярном введении триплета (метотрексат, цитозар, преднизолон), чем при введении цитозара/этопозиды, метотрексата и без регионарного введения химиопрепаратов – 0,34 (0,22; 0,46); 0,27 (0,05; 0,57); 0,00 (0,00; 0,00); 0,08 (0,01; 0,29) соответственно, $p = 0,0002$ (рисунок 2Д).

По результатам статистического анализа выявлено статистически значимое влияние на ОВ возраста пациентов на момент постановки диагноза, прове-

Рисунок 2

ВБП пациентов с АТРО ЦНС младше 3 лет в зависимости от различных факторов: А – возраста пациентов; Б – объема резекции опухоли; В – протокола ХТ; Г – ЛТ; Д – интратекальной/интравентрикулярной ХТ

Figure 2
The PFS of the patients with CNS AT/RT under 3 years of age according to various factors: A – patient age; Б – the extent of resection; В – chemotherapy protocol; Г – radiation therapy; Д – intrathecal/intraventricular chemotherapy



дение ЛТ, регионарной ХТ и ВДХТ, графики выживаемости представлены на рисунке 3.

ОВ у пациентов с АТРО ЦНС младше 3 лет была статистически значимо выше:

– у детей старше 12 месяцев в сравнении с младшей возрастной группой: 0,44 (0,29; 0,59) и 0,24 (0,11; 0,40) соответственно, $p = 0,0004$ (рисунок 3А);

– при проведении краниоспинального и локального облучения, чем при отсутствии ЛТ – 0,80 (0,20; 0,97), 0,50 (0,29; 0,68) и 0,13 (0,05; 0,26) соответственно, $p < 0,001$ (рисунок 3Б);

– при интратекальном/интравентрикулярном введении цитозара/этопозиды, чем при применении метотрексата, цитозара, преднизолона, только метотрексата и без регионарного введения химиопрепаратов: 0,56 (0,18; 0,82); 0,40 (0,25; 0,54); 0,15 (0,01; 0,50) и 0,20 (0,04; 0,42) соответственно, $p = 0,0408$ (рисунок 3В);

– при проведении ВДХТ с последующей ауто-ТГСК в отличие от пациентов без ВДХТ с ауто-ТГСК: 0,60 (0,20; 0,85) и 0,34 (0,23; 0,45) соответственно, $p = 0,0328$ (рисунок 3Г).

Проведен многофакторный анализ (регрессия Кокса) – Cox Proportional Hazard Model (Survival Regression).

Из таблицы 3 видно, что итоговая модель «Выживаемость без прогрессирования» включает переменные: «Возраст», «Локализация», «Объем резекции опухоли», «Проведение ЛТ», «Проведение интратекальной/интравентрикулярной ХТ», «Проведение ВДХТ».

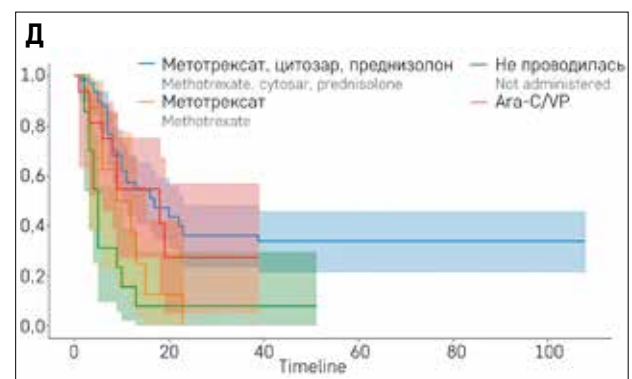
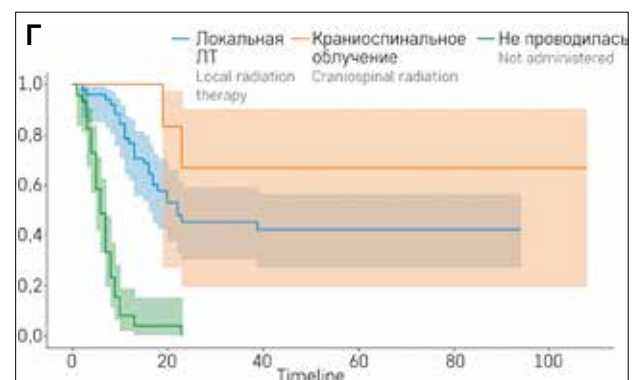


Рисунок 3

ОВ пациентов с АТРО ЦНС младше 3 лет в зависимости от различных факторов: А – возраста пациентов; Б – ЛТ; В – интратекальной/интравентрикулярной ХТ; Г – ВДХТ с ауто-ТГСКТ

Figure 3

The OS of the patients with CNS AT/RT under 3 years of age according to various factors: А – patient age; Б – radiation therapy; В – intrathecal/intraventricular chemotherapy; Г – high-dose chemotherapy with autologous HSCT

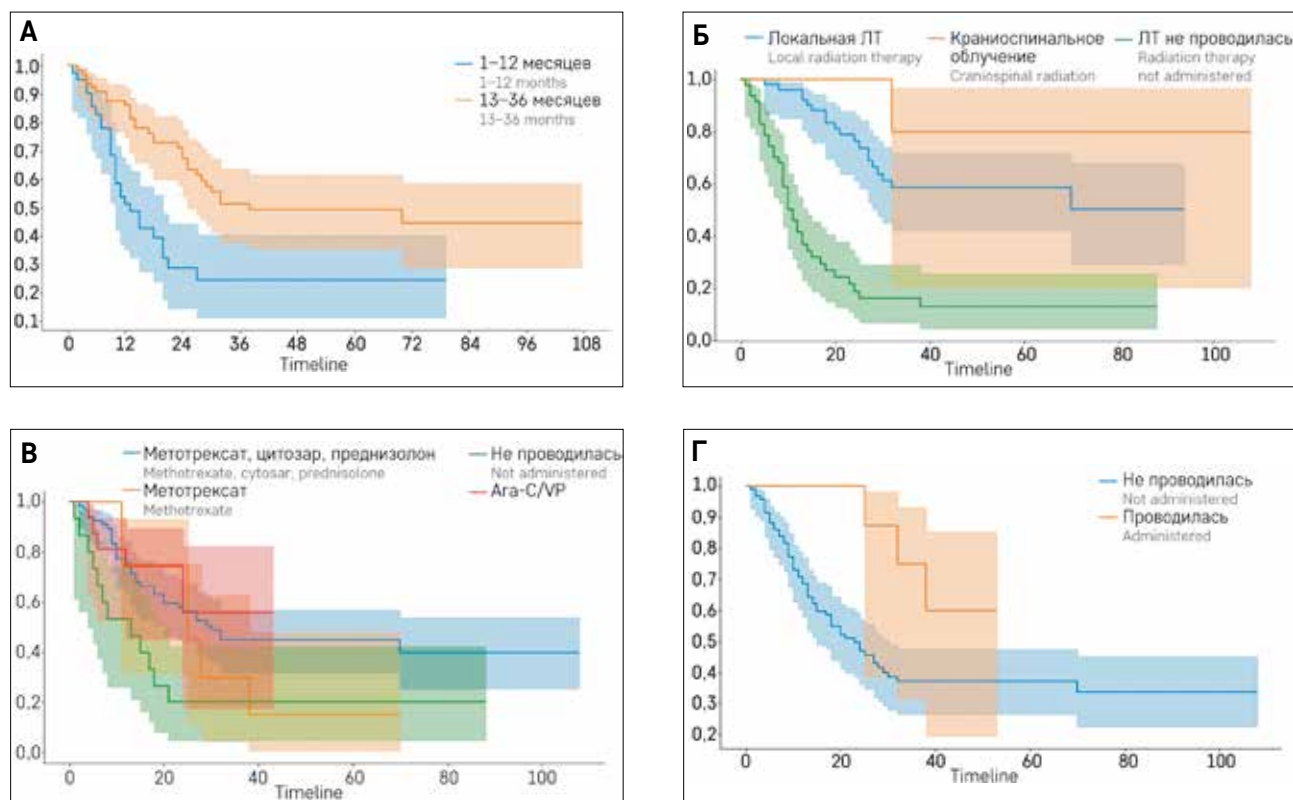


Таблица 3
Зависимость ВПГ

Table 3
The dependence of PFS

Показатель Parameter	Sig.	Exp(B) lower 95%	Exp(B)	Exp(B) upper 95%
Возраст Age	0,0706	0,3597	0,6122	1,0420
Локализация Location	0,0149	0,2923	0,5059	0,8754
Объем резекции опухоли Extent of resection	0,0304	1,0719	2,0808	4,0392
Проведение ЛТ Exposure to radiation therapy	< 0,001	0,0445	0,0875	0,1717
Проведение интратекальной/ интравентрикулярной ХТ Exposure to intrathecal/ intraventricular chemotherapy	0,0017	0,1568	0,3196	0,6515
Проведение ВДХТ Exposure to high-dose chemotherapy	0,0163	0,1396	0,3383	0,8194

Значение Exp(B) для переменной «Возраст» равно 0,6122. Это обозначает, что при увеличении возраста риск наступления исхода (смерти) увеличивается в 0,6122 раза или уменьшается на 38,78%.

Значение Exp(B) для переменной «Локализация» равно 0,5059. Это обозначает, что при локализации опухоли в супратенториальной области риск наступления исхода (смерти) увеличивается в 0,5059 раза или уменьшается на 49,41%. Или для членов попу-

ляции риск развития исхода (смерти) при локализации опухоли в супратенториальной области может уменьшаться на 12,46–70,77%.

Значение Exp(B) для переменной «Объем резекции опухоли» равно 2,0808. Это обозначает, что при не тотальном удалении опухоли риск наступления исхода (смерти) увеличивается в 2,0808 раза. Границы 95% ДИ отражают, в каких пределах с вероятностью 95% находится значение этого коэффициента для популяции, из которой была сформирована выборка. То есть для членов популяции риск развития исхода (смерти) при не тотальном удалении опухоли может увеличиться в 1,0719 раз до 4,0392 раза.

Значение Exp(B) для переменной «Проведение ЛТ» равно 0,0875. Это обозначает, что риск смерти снижается на 91,25% после проведения ЛТ. Границы 95% ДИ: 82,83–95,55.

Значение Exp(B) для переменной «Проведение интратекальной/интравентрикулярной ХТ» равно 0,3196. Это обозначает, что риск смерти снижается на 68,04% после проведения интратекальной/интравентрикулярной ХТ. Границы 95% ДИ: 34,85–84,32.

Значение Exp(B) для переменной «Проведение ВДХТ» равно 0,3383. Это обозначает, что риск

Таблица 4
Зависимость ОВ

Table 4
The dependence of OS

Показатель Parameter	Sig.	Exp(B) lower 95%	Exp(B)	Exp(B) upper 95%
Возраст Age	0,0035	0,2523	0,4406	0,7692
Проведение ЛТ Exposure to radiation therapy	< 0,001	0,1068	0,1890	0,3344

смерти снижается на 66,17% после проведения ВДХТ. Границы 95% ДИ: 18,06–86,04.

Из таблицы 4 видно, что итоговая модель «Общая выживаемость» включает переменные: «Возраст», «Проведение ЛТ»

Значение Exp(B) для переменной «Возраст» равно 0,4406. Это обозначает, что при увеличении возраста риск наступления исхода (смерти) уменьшается на 55,94%. Границы 95% ДИ: 23,08–74,77.

Значение Exp(B) для переменной «Проведение ЛТ» равно 0,1890. Это обозначает, что риск смерти снижается на 81,10% после проведения ЛТ. Границы 95% ДИ: 66,56–89,32.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

АТРО ЦНС – редкая агрессивная злокачественная опухоль с неблагоприятным исходом, выявляется преимущественно у детей раннего возраста [3, 4]. По данным литературы, АТРО ЦНС чаще локализуется под наметом мозжечка (~55–60%), реже над ним (~35–40%), крайне редко в спинном мозге (~1–2%) [3, 7, 15]. В нашем исследовании незначительно преобладали опухоли инфратенториальной локализации (54,7%), реже встречались супратенториальные опухоли (43,4%) и крайне редко в спинном мозге (1,9%). По данным международной литературы, 2-летняя ВБП у детей младшей возрастной группы с АТРО продолжает оставаться низкой и колеблется в пределах 25–40% [11, 12, 15–17]. В нашем исследовании 2-летняя ВБП составила 29%, что кардинально не отличается от международных данных.

В данном исследовании продемонстрированы несколько моментов, которые представляют большой интерес в терапии АТРО в возрасте до 3 лет. Результаты нашего исследования свидетельствуют о необходимости проведения ЛТ пациентам с АТРО младшей возрастной группы. По результатам одно- и многофакторного анализов ОВ и ВБП значительно выше у пациентов, получивших ЛТ. Ранее применение ЛТ у детей младше 3 лет было ограничено в связи с высоким риском нейрокогнитивных расстройств, эндокринных нарушений и развития вторичных опухолей. В некоторых протоколах использовалась риск-адаптированная ЛТ [10, 18]. В недавней

публикации W.C. Yang и соавт. [13] показано, что раннее проведение ЛТ способствует наилучшей выживаемости больных с АТРО. С учетом появившейся возможности проведения протонной ЛТ в РФ возраст пациентов с АТРО, которые могут получать ЛТ, снизился до 1 года. Ранее в центре MD Anderson проведен анализ показателей 31 пациента с АТРО после облучения протонами: медиана бессобытийной выживаемости (БСВ) составила 20,8 мес, ОВ – 34,3 мес [19]. В исследовании D.C. Weber 2-летние показатели ОВ и БСВ составили 64,6% и 66% соответственно. При этом острая токсичность была не выше II степени, а 2-летняя выживаемость без проявлений токсичности составила 90% [20]. Таким образом, снижения качества жизни отмечено не было. В ранее опубликованное корейское исследование включены пациенты, получившие тандемную ВДХТ с последующей ауто-ТГСК, все выжившие больные получали ЛТ на ранних сроках терапии [21]. Ни один из пациентов, получавших индукционную полихимиотерапию и ВДХТ с последующей ауто-ТГСК без ЛТ, не выжил. Это косвенно предполагает, что ВДХТ с последующей ауто-ТГСК не может заменить ЛТ в качестве метода локального лечения. Аналогично в исследовании Reddy и соавт. сочетание ЛТ и ВДХТ с последующей ауто-ТГСК позволило достичь 4-летней ВБП и ОВ у пациентов младше 3 лет 35% и 40% соответственно [11].

В нашем исследовании при однофакторном анализе проведение ВДХТ с последующей ауто-ТГСК улучшает ОВ и БСВ, при многофакторном анализе БСВ также зависит от ВДХТ. Пока не проведено рандомизированного исследования для оценки ВДХТ с ауто-ТГСК на выживаемость пациентов старше 3 лет. Ряд авторов подчеркивают значение ВДХТ с последующей ауто-ТГСК для повышения выживаемости пациентов с АТРО. В исследовании Lafay-Cousin и соавт. сообщалось об улучшении ОВ у пациентов, получивших высокодозную полихимиотерапию с ауто-ТГСК по сравнению с пациентами, получившими только стандартную полихимиотерапию: 2-летняя ОВ составила $47,9 \pm 12,1\%$ и $27,3 \pm 9,5\%$ соответственно [22]. Тем не менее стоит отметить, что среди 9 выживших пациентов, получивших высокодозную полихимиотерапию, 55% имели тотальную резекцию опухоли и 67% – локальную стадию на момент постановки диагноза. Отдельно стоит подчеркнуть результаты лечения АТРО ЦНС по протоколу MUV у 9 пациентов с М0–М3-стадией, полученные группой Медицинского университета Вены. Схема лечения включала 3 блока 9-недельной полихимиотерапии с использованием антрациклинов, алкилирующих препаратов, высокодозного метотрексата и интратекальной ХТ (этопозид, цитозар) с последующим проведением ВДХТ с ауто-ТГСК. Локальную

ЛТ (средняя очаговая доза 54 Гр) проводили после завершения полихимиотерапии. При этом 5-летняя ОВ у данной когорты больных составила 100%, БСВ – $88,9 \pm 10,58\%$ [23]. Напротив, стратегия Headstart III, основанная на индукции с использованием высоких доз метотрексата и миелоаблативном режиме ВДХТ с ауто-ТГСК, не привела к аналогичным результатам, что указывает на потенциально пагубный эффект продолжительной индукции [24]. Fossey и соавт. продемонстрировали улучшение 5-летней ВБП у пациентов с АТРО в возрасте до 1 года, получивших ВДХТ с ауто-ТГСК, по сравнению с теми, кто не получал ВДХТ: 50,1% и 11,3% соответственно, $p < 0,001$. При этом у пациентов, достигших полного эффекта до проведения ВДХТ, ОВ значительно выше [15]. Это свидетельствует о том, что статус опухоли до ВДХТ важен для прогнозирования результата и необходимо тщательное рассмотрение показаний для ВДХТ. Однако из-за небольшого числа пациентов и используемых различных методов лечения пока невозможно сделать однозначных выводов относительно роли ВДХТ с ауто-ТГСК у пациентов с АТРО.

Также в настоящее время нет единого мнения в отношении оптимальной схемы стандартной полихимиотерапии. Протокол IRS III (АТРО-2006), включающий стандартную ХТ в сочетании с интратекальной/интравентрикулярной ХТ и адъювантной ЛТ позволил достичь 2-летней БСВ и ОВ 53% и 70% соответственно [10]. В исследовании EuroRhab, в котором использовалась стандартная ХТ с включением антрациклинов и алкилирующих агентов в сочетании с интравентрикулярной ХТ метотрексатом и ЛТ, были достигнуты аналогичные результаты: 6-летняя БСВ и ОВ составили 45% и 46% соответственно [6]. В нашем исследовании ВБП была статистически достоверно выше у пациентов, получавших ХТ по протоколу АТРО-2006 – 0,33 (0,21; 0,46), $p = 0,0020$ по сравнению с другими протоколами терапии.

Интравентрикулярное/интратекальное введение химиопрепаратов используется в комбинации со стандартной полихимиотерапией или ВДХТ в целях профилактики и лечения лептоменингеального распространения опухоли [6, 10, 23]. Наиболее часто используются метотрексат, цитарабин и этопозид. В недавнем метаанализе 44 исследований, включавшем 123 пациента с метастатической АТРО, было продемонстрировано улучшение ОВ после применения интратекальной ХТ (3-летняя ОВ составила 32% против 22% соответственно), что в очередной раз подчеркивает необходимость использования данного подхода в терапии АТРО [25]. Однако есть данные о противоречивых результатах использования интравентрикулярной/интратекальной ХТ [18, 22, 26]. По

результатам данного исследования проведение регионарной ХТ статистически достоверно повышает ОВ и ВБП, а также влияет на ВБП при многофакторном анализе.

Следует отдельно подчеркнуть влияние молекулярной группы на результаты лечения пациентов с АТРО. Frühwald и соавт. продемонстрировали более высокую 5-летнюю ОВ у пациентов с молекулярной группой АТРТ-TYR по сравнению с АТРТ-MYC и АТРТ-SHN: $48,8 \pm 10,2\%$; $36,4 \pm 12,5\%$ и $19 \pm 8,8\%$ соответственно. Авторы показали, что молекулярная группа АТРТ-TYR и возрастная группа старше 1 года являются потенциально независимыми факторами стратификации пациентов с АТРО на группы риска [7]. Напротив, Reddy и соавт. отметили, что 4-летняя ОВ выше у пациентов с опухолями АТРТ-SHN по сравнению с АТРТ-TYR и АТРТ-MYC: 56%, 41% и 27% соответственно, $p = 0,266$. Необходимы дальнейшие крупные ретро- и проспективные исследования в целях определения влияния молекулярной группы на выживаемость пациентов с АТРО для возможной редукции объема терапии [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При анализе выборки пациентов с АТРО ЦНС младше 3 лет в нашем исследовании ВБП статистически значимо была выше у детей старше 12 месяцев с тотальной резекцией опухоли, получивших полихимиотерапию по протоколу АТРО-2006 с включением ЛТ и регионарным введением триплета химиопрепаратов. ОВ у пациентов с АТРО ЦНС младше 3 лет была статистически значимо выше у пациентов старше 12 месяцев при проведении ЛТ, при интратекальном/интравентрикулярном введении цитозара/этопозид, при проведении ВДХТ с последующей ауто-ТГСК. При многофакторном анализе на ВБП влияли возраст, локализация опухоли, объем резекции, проведение ЛТ, регионарная ХТ, ВДХТ с ауто-ТГСК; на ОВ – возраст и ЛТ.

На основании вышеописанных статистических данных можно дать следующие практические рекомендации при определении тактики ведения пациентов с АТРО:

1. В связи с тем, что выживаемость у пациентов с тотально удаленными опухолями статистически значимо выше, необходимо выполнять максимально возможную резекцию при первичном удалении опухоли.

2. У пациентов с АТРО как одной из самых высокоагрессивных опухолей ЦНС необходимо проведение ЛТ вне зависимости от возраста. Этот метод терапии рассматривается как одна из основных куративных опций для пациентов с АТРО. У детей целесообразно применение протонной ЛТ, что позволит снизить риск

отдаленных осложнений. Ограничение по возрасту возможно в объеме ЛТ.

3. ХТ – неотъемлемый компонент в комплексном лечении пациентов с АТРО ЦНС. Использование системной и регионарной ХТ по протоколу АТРО-2006 является наиболее эффективным в лечении АТРО.

4. ВДХТ – важный метод лечения АТРО у детей младше 3 лет.

Кроме этого, хочется подчеркнуть, что улучшение выживаемости данной группы пациентов может быть основано на дифференцированном подходе в терапии в соответствии с молекулярными подгруппами АТРО. Пациенты, перенесшие терапию по поводу АТРО ЦНС, должны длительно находиться под динамическим наблюдением не только детского онколога, но и специалистов других профилей в целях своевременного определения не только вторичных опухолей, но и отсроченной токсичности проведенной терапии, оценки нейрокогнитивных функций, качества жизни.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Olkhova L.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7531-6443>
 Zheludkova O.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8607-3635>
 Zubarovskaya L.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2594-7703>
 Smirnova A.Yu. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5293-9568>
 Dinikina Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2003-0982>
 Kushel Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7136-0693>
 Melikyan A.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0737-5983>
 Gorelyshev S.K. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0984-2039>
 Ryzhova M.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7206-6365>
 Trunin Yu.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4240-5036>
 Shults E.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5406-9444>
 Gevorgyan A.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2905-8209>
 Gorbatykh S.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3327-3772>
 Kislyakov A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8735-4909>
 Popov V.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4835-8047>
 Privalova L.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3327-4582>
 Yudina N.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7305-6959>
 Tarasova E.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3095-0790>
 Pogorelov D.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9331-5049>
 Polushkina O.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9364-5881>
 Levashov A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5081-3964>
 Vorobyov N.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6998-5771>
 Plakhotina N.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9131-7924>
 Martynova N.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1679-5173>
 Skvortsova T.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0392-7576>
 Zaychikov A.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0462-6591>
 Mushinskaya M.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5093-9196>
 Sakun D.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2663-068X>
 Minkina L.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4637-1707>
 Lukina T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3914-8654>
 Shchepkina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2079-1482>
 Korshunov A.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5257-3623>

Литература

1. Hilden J.M., Meerbaum S., Burger P., Finlay J., Janss A., Scheithauer B.W., et al. Central nervous system atypical teratoid/rhabdoid tumor: results of therapy in children enrolled in a registry. *J Clin Oncol* 2004; 22 (14): 2877–84. DOI: 10.1200/JCO.2004.07.073. PMID: 15254056.
2. Tekautz T.M., Fuller C.E., Blaney S., Fou-ladi M., Broniscer A., Merchant T.E., et al. Atypical teratoid/rhabdoid tumors (ATRT): improved survival in children 3 years of age and older with radiation therapy and high-dose alkylator-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 2005; 23 (7): 1491–9. DOI: 10.1200/JCO.2005.05.187. PMID: 15735125.
3. Ostrom Q.T., Chen Y., de Blank P.M., Ondracek A., Farah P., Gittleman H., et al. The descriptive epidemiology of atypical teratoid/rhabdoid tumors in the United States, 2001–2010. *Neuro Oncol* 2014; 16 (10): 1392–9.
4. Lau C.S., Mahendraraj K., Chamberlain R.S. Atypical teratoid rhabdoid tumors: a population-based clinical out-comes study involving 174 patients from the Surveillance, Epidemiology, and End Results database (1973–2010). *Cancer Manag Res* 2015; 7: 301–9.
5. Желудкова О.Г., Коршунов А.Г., Горбатовых С.В., Лившиц М.И., Попов В.Е., Тарасова И.С. и др. Злокачественные тератоид-рабдоидные опухоли центральной нервной системы у детей. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2003; 2 (3): 32–9.
6. Bartelheim K., Nemes K., Seeringer A., Kerl K., Buechner J., Boos J., et al. Improved 6-year overall survival in AT/RT – results of the registry study Rhabdoid 2007. *Cancer Med* 2016; 5 (8): 1765–75. DOI: 10.1002/cam4.741.
7. Frühwald M.C., Hasselblatt M., Nemes K., Bens S., Steinbügl M., Johann P.D., et al. Age and DNA methylation subgroup as potential independent risk factors for treatment stratification in children with atypical teratoid/rhabdoid tumors. *Neuro Oncol* 2020; 22 (7): 1006–17. DOI: 10.1093/neuonc/noz244. PMID: 31883020; PMCID: PMC7339901.
8. Ольхова Л.В., Желудкова О.Г., Кушель Ю.В., Меликян А.Г., Горелышев С.К., Рыжова М.В. и др. Результаты мультицентрового исследования лечения атипичных тератоидно-рабдоидных опухолей центральной нервной системы у детей. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2020; 99 (4): 18–27.
9. Richardson E.A., Ho B., Huang A. Atypical teratoid rhabdoid tumor: from tumors to therapies. *J Korean Neurosurg Soc* 2018; 61 (3): 302–11. DOI: 10.3340/jkns.2018.0061.
10. Chi S.N., Zimmerman M.A., Yao X., Cohen K.J., Burger P., Biegel J.A., et al. Intensive multimodality treatment for children with newly diagnosed CNS atypical teratoid rhabdoid tumor. *J Clin Oncol* 2009; 27 (3): 385–9. DOI: 10.1200/JCO.2008.18.7724. Epub 2008 Dec 8. PMID: 19064966; PMCID: PMC2645855.
11. Reddy A.T., Strother D.R., Judkins A.R., Burger P.C., Pollack I.F., Krailo M.D., et al. Efficacy of High-Dose Chemotherapy and

- Three-Dimensional Conformal Radiation for Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor: A Report From the Children's Oncology Group Trial ACNS0333. *J Clin Oncol* 2020; 38 (11): 1175–85. DOI: 10.1200/JCO.19.01776. Epub 2020 Feb 27. PMID: 32105509; PMCID: PMC7145589.
12. Park M., Han J.W., Hahn S.M., Lee J.A., Kim J.Y., Shin S.H., et al. Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor of the Central Nervous System in Children Under the Age of 3 Years. *Cancer Res Treat* 2020. DOI: 10.4143/crt.2020.756. Epub ahead of print. PMID: 33138347.
 13. Yang W.C., Yen H.J., Liang M.L., Chen H.H., Lee Y.Y., Chang F.C., et al. Effect of early radiotherapy initiation and high-dose chemotherapy on the prognosis of pediatric atypical teratoid rhabdoid tumors in different age groups. *J Neurooncol* 2020; 147 (3): 619–31. DOI: 10.1007/s11060-020-03456-1. Epub 2020 Mar 28. PMID: 32222933.
 14. Ольхова Л.В., Желудкова О.Г., Попов В.Е., Басалай Т.В., Кисляков А.Н., Скобеев Д.А., Ким Л.А. Шунт-ассоциированное интраабдоминальное метастазирование атипичной тератоид-рабдоидной опухоли головного мозга. *Детская хирургия* 2020; 24 (2): 108–16.
 15. Fossey M., Li H., Afzal S., Fossey M., Li H., Afzal S., et al. Atypical teratoid rhabdoid tumor in the first year of life: the Canadian ATRT registry experience and review of the literature. *J Neurooncol* 2017; 132 (1): 155–62.
 16. Lu V.M., Di L., Eichberg D.G., Luther E.M., Shah A.H., Daniels D.J., et al. Age of diagnosis clinically differentiates atypical teratoid/rhabdoid tumors diagnosed below age of 3 years: a database study. *Childs Nerv Syst* 2020. DOI: 10.1007/s00381-020-04972-1. Epub ahead of print. PMID: 33236183.
 17. Yamasaki K., Kiyotani C., Terashima K., Watanabe Y., Kanamori M., Koga Y., et al. Clinical characteristics, treatment, and survival outcome in pediatric patients with atypical teratoid/rhabdoid tumors: a retrospective study by the Japan Children's Cancer Group. *J Neurosurg Pediatr* 2019; 1–10. DOI: 10.3171/2019.9.PEDS19367. Epub ahead of print. PMID: 31731266.
 18. Fonseca A., Al-Karmi S., Vasiljevic A., Dodgson A., Sin Chan P., Lafay Cousin L., et al. Rare embryonal brain tumors. In: *Brain tumors in children*. Springer; 2018. Pp. 302–309.
 19. McGovern S.L., Okcu M.F., Munsell M.F., Kumbalasseriyil N., Grosshans D.R., McAleer M.F. Outcomes and acute toxicities of proton therapy for pediatric atypical teratoid/rhabdoid tumor of the central nervous system. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2014; 90 (5): 1143–52.
 20. Weber D.C., Ares C., Malyapa R., Albertini F., Calaminus G., Kliebsch U., et al. Tumor control and QoL outcomes of very young children with atypical teratoid/rhabdoid tumor treated with focal only chemo-radiation therapy using pencil beam scanning proton therapy. *J Neurooncol* 2015; 121 (2): 389–97.
 21. Sung K.W., Lim D.H., Yi E.S., Choi Y.B., Lee J.W., Yoo K.H., et al. Tandem High-Dose Chemotherapy and Autologous Stem Cell Transplantation for Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor. *Cancer Res Treat* 2016; 48 (4): 1408–19. DOI: 10.4143/crt.2015.347. Epub 2016 Apr 1. PMID: 27034140; PMCID: PMC5080816.
 22. Lafay-Cousin L., Hawkins C., Carret A.S., Johnston D., Zelcer S., Wilson B., et al. Central nervous system atypical teratoid rhabdoid tumours: the Canadian Paediatric Brain Tumour Consortium experience. *Eur J Cancer*. 2012; 48 (3): 353–9. DOI: 10.1016/j.ejca.2011.09.005. Epub 2011 Oct 22. PMID: 22023887.
 23. Slavc I., Chocholous M., Leiss U., Haberer C., Peyrl A., Azizi A.A., et al. Atypical teratoid rhabdoid tumor: improved long-term survival with an intensive multimodal therapy and delayed radiotherapy. *The Medical University of Vienna Experience 1992–2012*. *Cancer Med* 2014; 3 (1): 91–100. DOI: 10.1002/cam4.161. Epub 2013 Dec 11. PMID: 24402832; PMCID: PMC3930393.
 24. Zaky W., Dhall G., Ji L., Haley K., Allen J., Atlas M., et al. Intensive induction chemotherapy followed by myeloablative chemotherapy with autologous hematopoietic progenitor cell rescue for young children newly-diagnosed with central nervous system atypical teratoid/rhabdoid tumors: the Head Start III experience. *Pediatr Blood Cancer* 2014; 61 (1): 95–101. DOI: 10.1002/pbc.24648. Epub 2013 Aug 11. PMID: 23934933.
 25. Underiner R.M., Eltobgy M., Stanek J.R., Finlay J.L., AbdelBaki M.S. Meta-Analysis of Treatment Modalities in Metastatic Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumors in Children. *Pediatr Neurol* 2020; 108: 106–12. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2020.03.003. Epub 2020 May 8. PMID: 32402552.
 26. Schrey D., Carceller Lechón F., Malietzis G., Moreno L., Dufour C., Chi S., et al. Multimodal therapy in children and adolescents with newly diagnosed atypical teratoid rhabdoid tumor: individual pooled data analysis and review of the literature. *J Neurooncol* 2016; 126 (1): 81–90. DOI: 10.1007/s11060-015-1904-0. Epub 2015 Nov 25. PMID: 26608522.

10.24287/1726-1708-2021-20-2-133-142

БЦЖ-ассоциированные осложнения у пациентов с первичными иммунодефицитами после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Е.Б. Мачнева^{1, 2}, А.В. Мезенцева¹, Л.В. Ольхова¹, Е.А. Пристанскова¹, А.Е. Буря¹, В.В. Константинова¹, О.А. Филина¹, Ю.А. Николаева¹, А.А. Светачева¹, О.Л. Благонравова¹, К.И. Киргизов², Е.В. Скоробогатова¹

¹Российская детская клиническая больница ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Вакцина БЦЖ (бацилла Кальмета–Герена, BCG – Bacillus Calmette–Guerin) широко применяется для вакцинации новорожденных в первые дни жизни в целях защиты от развития микобактериальных инфекций. Однако развитие осложнений после введения вакцины БЦЖ у пациентов с первичными иммунодефицитами (ПИД) может привести к серьезным последствиям для их здоровья и жизни. Важной проблемой является развитие БЦЖ-ассоциированных осложнений у пациентов с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью (ТКИН) и хронической гранулематозной болезнью (ХГБ) после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). В статье представлен ретроспективный анализ данных наблюдения за 45 пациентами с ТКИН и ХГБ, вакцинированными БЦЖ и перенесшими ТГСК. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. БЦЖ-ассоциированные осложнения, как локализованные, так и генерализованные, наблюдались у 33 (73,3%) пациентов в посттрансплантационном периоде. Значимым предиктором развития данных осложнений после трансплантации явилось наличие осложнений, связанных с вакциной БЦЖ, в предтрансплантационном периоде. Наиболее тяжелое и длительное течение БЦЖ-ассоциированных осложнений отмечалось у больных с ТКИН: медиана редукции проявлений БЦЖ-инфекции у пациентов с ХГБ составила 30 дней, при ТКИН – 100 дней ($p < 0,001$). Тяжесть БЦЖ-ассоциированных осложнений, характер основного заболевания, а также наличие предтрансплантационных БЦЖ-ассоциированных осложнений не влияли на общую выживаемость пациентов, которая составила для всей группы включенных в исследование больных $79,5 \pm 6,6\%$. Нарушение схемы профилактического приема антимикобактериальных препаратов до ТГСК привело у ряда пациентов к развитию тяжелых форм инфекции. В терапии осложнений, связанных с БЦЖ, применялась комбинация нескольких антимикобактериальных препаратов, а также противовоспалительные средства (глюкокортикостероиды, антагонисты рецепторов интерлейкинов-1 и -6) в случае развития воспалительного синдрома восстановления иммунитета ($n = 18$). Единственным эффективным методом профилактики развития БЦЖ-ассоциированной инфекции в пред- и посттрансплантационном периоде у пациентов с ТКИН и ХГБ является предотвращение вакцинации, основанное на подробном изучении семейного анамнеза новорожденного. Важным является также применение непрерывной профилактической схемы антимикобактериальной терапии у вакцинированных пациентов в пред- и посттрансплантационном периоде. Кроме того, необходима разработка единой эффективной стратегии по профилактике и лечению БЦЖ-ассоциированных осложнений у пациентов с ПИД как до, так и после ТГСК.

Ключевые слова: вакцина БЦЖ, БЦЖит, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, первичные иммунодефициты, тяжелая комбинированная иммунная недостаточность, хроническая гранулематозная болезнь, общая выживаемость

Мачнева Е.Б. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 133–142. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-133-142

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 30.03.2021

Принята к печати 23.04.2021

Контактная информация:

Мачнева Елена Борисовна, канд. мед. наук, врач-гематолог отделения трансплантации костного мозга РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, Ленинский проспект, 117
E-mail: lena.machneva@yandex.ru

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 30.03.2021

Accepted 23.04.2021

BCG vaccine-related complications in patients with primary immunodeficiencies after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

E.B. Machneva^{1,2}, A.V. Mezentsseva¹, L.V. Olkhova¹, E.A. Pristanskova¹, A.E. Burya¹, V.V. Konstantinova¹, O.A. Filina¹, Yu.A. Nikolayeva¹, A.A. Svetacheva¹, O.L. Blagonravova¹, K.I. Kirgizov², E.V. Skorobogatova¹

¹Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Elena B. Machneva,
cand. med. sci., a hematologist at
the Department of Bone Marrow
Transplantation of the Russian Children's
Clinical Hospital, N.I. Pirogov Russian
National Research Medical University,
Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 117 Leninskiy Prosp,
Moscow 117997, Russia
E-mail: lena.machneva@yandex.ru

BCG (Bacillus Calmette–Guérin) vaccine is widely used for the vaccination of newborns within the first few days of life to prevent mycobacterial infections. However, complications occurring after BCG vaccination in patients with primary immunodeficiencies (PIDs) can lead to serious consequences for their health and life. BCG vaccine-related complications occurring in patients with severe combined immunodeficiency (SCID) and chronic granulomatous disease (CGD) after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) constitute an important problem. The article presents a retrospective observational analysis of 45 patients with SCID and CGD who received BCG vaccination and underwent HSCT. In the post-transplant period, 33 (73.3%) patients had BCG-related complications, either localized or generalized. The presence of BCG vaccine-related complications in the pre-transplant period was a significant predictor of the development of post-transplant complications. The most severe and long-term BCG vaccine-related complications were observed in the patients with SCID: the median time to the resolution of symptoms of BCG infection was 30 days and 100 days in the CGD patients and the SCID patients, respectively ($p < 0.001$). The severity of BCG vaccine-related complications included a combination of several antimycobacterial agents, and anti-inflammatory drugs (such as glucocorticoids, interleukin-1 and 6 receptor antagonists) in cases of immune reconstitution inflammatory syndrome ($n = 18$). The only effective method of prophylaxis of BCG-related infections in patients with SCID and CGD in the pre- and post-transplant period is the exemption of newborns from BCG vaccination based on their family history. Uninterrupted antimycobacterial prophylaxis in vaccinated patients in the pre- and post-transplant period is also important. Furthermore, an effective uniform strategy for the prevention and treatment of BCG vaccine-related complications in PID patients both before and after HSCT is needed.

Key words: BCG vaccine, BCGitis, hematopoietic stem cell transplantation, primary immunodeficiencies, severe combined immunodeficiency, chronic granulomatous disease, overall survival

Machneva E.B. , et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 133–142.

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-133-142

Вакцина БЦЖ (бацилла Кальмета–Герена, BCG – *Bacillus Calmette–Guerin*) на протяжении уже 100 лет широко используется во всем мире для профилактики туберкулеза [1, 2]. Учитывая высокую значимость проблемы заболеваемости туберкулезом для общественного и индивидуального здоровья, значимая часть новорожденных во всем мире вакцинируются БЦЖ [1].

Вакцина БЦЖ была разработана в 1921 г. во Франции Альбертом Кальметом и Камилем Гереном, ежегодно ее вводят примерно 120 млн новорожденных в странах, где туберкулез остается серьезной проблемой здравоохранения [3–5]. Вакцина обеспечивает защиту детей грудного возраста главным образом от мiliary туберкулеза и туберкулезного менингита. Она состоит из живого аттенуированного штамма *Mycobacterium bovis*, который обеспечивает иммунный ответ и защиту от более вирулентных *Mycobacterium tuberculosis*. При этом примерная распространенность осложнений, ассоциированных с вакциной БЦЖ, составляет 1:2500 и 1:50 000–100 000 для локализованных и диссеминированных форм соответственно [6]. Данные осложнения можно разделить на местные (в месте вакцинации) или региональные (затрагивающие соседний лимфатический узел) – так называемые БЦЖиты, а также отдаленные (затрагивающие один локус) или диссеминированные (затрагивающие более одного локуса и/или проявляющиеся бактериемией) [7]. Поскольку БЦЖ является живой аттенуированной вакциной, частота ассоции-

рованных с ней осложнений значительно возрастает у лиц с иммунодефицитом [8], особенно у пациентов с дефектами Т-клеток, врожденной восприимчивостью к микобактериальным заболеваниям и хронической гранулематозной болезнью (ХГБ). Так, проведенный S. Fekrvand и соавт. [8] метаанализ научных публикаций, посвященных ассоциированным с вакцинацией БЦЖ осложнениям у пациентов с первичными иммунодефицитами (ПИД), показал, что среди 1691 включенного в анализ больного осложнения после вакцинации БЦЖ возникли в 41,5% случаев. Наиболее часто осложнения наблюдались у пациентов с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью (ТКИН), у которых также отмечена самая высокая летальность от осложнений вакцинации БЦЖ. Кроме того, пациенты с менделеевской восприимчивостью к микобактериальным заболеваниям также имели высокую частоту БЦЖ-ассоциированных осложнений (90,6%) [8].

ТКИН представляет собой гетерогенную группу редких ПИД, характеризующихся отсутствием Т-клеток, а в некоторых случаях В- и/или NK-клеток, что приводит к дефектам как клеточного, так и гуморального иммунитета [9–11]. Пациенты с ТКИН подвергаются высокому риску развития опасных для жизни осложнений после вакцинации БЦЖ. При этом нередко диагноз ТКИН бывает заподозрен лишь тогда, когда у больных развиваются вакциноассоциированные инфекции, особенно при отсутствии семейного анамнеза [12]. Проявления БЦЖ-ассо-

цированной инфекции у пациентов с ТКИН разнообразны, часто возникают лихорадка, язва или абсцесс в месте вакцинации, пневмония, гепатоспленомегалия, остеомиелит, абсцесс печени, менингоэнцефалит [13].

Пациенты с ХГБ также склонны к развитию ассоциированных с БЦЖ осложнений. Это заболевание определяется полным отсутствием или низким уровнем активных форм кислорода из-за дефектов комплекса никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ)-оксидазы в фагоцитах, что приводит к неэффективному фагоцитозу БЦЖ [14]. Поскольку вакцинация БЦЖ выполняется в первые дни жизни ребенка, БЦЖ-инфекция у 60% пациентов с ХГБ является первым клиническим проявлением основного заболевания [15].

Механизм функционирования иммунной системы при защите от внутриклеточных бактерий, в том числе микобактерий, заключается в образовании тканевой гранулемы, которая включает различные субпопуляции Т- и В-лимфоцитов, фагоцитов и дендритных клеток. Цитолитическая функция CD8⁺-Т-лимфоцитов вместе с осью интерлейкин-12/интерферон-гамма (ИЛ-12/IFN- γ) усиливается за счет продукции фактора некроза опухоли вместе с последующим образованием активных форм кислорода и реактивных форм азота [8, 16, 17]. Лизосомальные ферменты, апоптоз и аутофагия являются важными компонентами иммунитета хозяина в борьбе с микобактериями [8, 16, 17]. К развитию микобактериальной инфекции предрасполагает дефект в любом из этих путей: нарушение развития и функции Т-лимфоцитов (особенно при ТКИН), дефект опосредованного IFN- γ пути защиты (в случае менделевской предрасположенности к микобактериальным заболеваниям) и нарушение функции фагоцитов (особенно при ХГБ) [8].

Поскольку ТКИН и ХГБ относятся к группе заболеваний, единственным эффективным методом лечения которых является трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), осложнения, ассоциированные с БЦЖ, представляют собой серьезную проблему для таких пациентов в посттрансплантационном периоде. БЦЖ-ассоциированная инфекция у пациентов с ПИД после ТГСК может иметь не только затяжное и тяжелое течение, приобретая нередко мультисистемный характер, но и в наиболее тяжелых случаях приводить к летальному исходу [2]. Кроме того, БЦЖ-ассоциированная инфекция нередко вносит вклад в развитие воспалительного синдрома восстановления иммунитета (immune reconstitution inflammatory syndrome). Данный феномен, впервые описанный у пациентов с синдромом приобретенного иммунодефицита, получающих антиретровирусную терапию, актуален и для

больных после ТГСК на фоне восстановления иммунитета [2, 18]. Воспалительный синдром восстановления иммунитета развивается вследствие активации различных факторов врожденного иммунного ответа при участии ряда провоспалительных цитокинов в ответ на присутствие в организме различных инфекционных или неинфекционных антигенов на фоне восстановления иммунитета [19]. Характеризуется данный синдром клиническим ухудшением течения инфекционного процесса, нередко с присоединением мультисистемного воспаления, лихорадки, значительным повышением провоспалительных маркеров [20]. Наиболее подробно описано развитие воспалительного синдрома восстановления иммунитета на фоне микобактериальной, криптококковой, полиомавирусной, герпесвирусной (герпес 1-го и 2-го типов, вирус Варицелла-Зостер, цитомегаловирус) инфекций [20].

В настоящее время нет общепринятых и подробных руководств по лечению осложнений БЦЖ после ТГСК, используются различные схемы, исходя из опыта и возможностей отдельных трансплантационных центров [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. Проведен ретроспективный анализ результатов течения БЦЖ-ассоциированных осложнений у пациентов с ПИД, получивших ТГСК в отделении трансплантации костного мозга Российской детской клинической больницы. В исследование были включены 45 пациентов с врожденной патологией фагоцитарного (пациенты с ХГБ) или Т-клеточного (пациенты с ТКИН) звена иммунитета, вакцинированных в период новорожденности вакциной БЦЖ и перенесших ТГСК в период с января 2002 г. по март 2021 г. Все пациенты, включенные в исследование, получили вакцину в течение первой недели жизни в соответствии с Национальным календарем вакцинации. Всем пациентам с ХГБ для подтверждения диагноза было выполнено генетическое исследование с выявлением X-сцепленного (мутация в гене *CYBB*) либо аутосомно-рецессивного варианта заболевания. Диагноз у пациентов с ТКИН был подтвержден на основании наличия классических критериев ТКИН (очень низкое содержание Т-клеток – CD3 < 300/мкл и отсутствие или очень низкая функция Т-клеток), а также на основании наличия характерных для ТКИН генетических мутаций (*JAK3*, *RAG1*, *IL2RG*), фенотипа, характерного для синдрома Оменн [21]. Профилактическое

лечение вакцинированных БЦЖ пациентов проводилось различными комбинациями 2–3 антимикобактериальных препаратов (изониазид, рифампин, амикацин, левофлоксацин, этамбутол) в зависимости от тяжести состояния пациента, проявлений токсичности терапии, а также с учетом лекарственного взаимодействия. Лечение манифестировавших БЦЖ-ассоциированных осложнений проводилось комбинацией не менее 3–4 препаратов. Симптоматическое и местное лечение БЦЖ-ассоциированных осложнений подбиралось индивидуально для каждого пациента. При появлении признаков воспалительного синдрома восстановления иммунитета на фоне течения БЦЖ-ассоциированных осложнений (лихорадка, повышение провоспалительных маркеров, клиническое ухудшение в локусах поражения) проводилась эскалация антимикобактериальной терапии, а при необходимости в целях купирования цитокиновых реакций добавлялись глюкокортикостероиды, антагонисты интерлейкина-6 (тоцилизумаб) и интерлейкина-1 (анакинра). Осложнения, ассоциированные с БЦЖ, диагностировались на основании клинической оценки с дополнением результатами микробиологических, морфологических, инструментальных исследований. Всем пациентам с поражением легких ($n = 22$) выполнялись обзорная рентгенография и компьютерная томография органов грудной клетки, 10 из них был выполнен бронхоальвеолярный лаваж с последующим микробиологическим исследованием и исследованием материала с помощью полимеразной цепной реакции на наличие *Mycobacterium bovis*. Морфологическое исследование пораженного лимфатического узла после оперативного удаления было выполнено 4 пациентам, резецированного участка тонкой кишки – 1 больному. БЦЖ-ассоциированные осложнения классифицировались как БЦЖит – локальное (в месте вакцинации) и/или региональное (с вовлечением регионарных лимфатических узлов) поражение и генерализованная БЦЖ-ассоциированная инфекция – диссеминированная форма с вовлечением отдаленных локусов и возможной бактериемией [2]. Отдельные характеристики пациентов (таблица) оценивались в следующих группах: без БЦЖ-ассоциированных осложнений, с БЦЖитом и с генерализованной БЦЖ-ассоциированной инфекцией. Также отдельные показатели сравнивались между группами пациентов с ТКИН и ХГБ.

Статистический анализ

Медиана наблюдения за пациентами после ТГСК составила 30 (от 1 до 227) месяцев. Показатели выживаемости и кумулятивной вероятности событий рассчитывались по методу Каплана–Майера. Общая выживаемость (ОВ) рассчитывалась от даты ТГСК до

смерти пациента по любой причине, цензурирование живущих на момент анализа данных пациентов проводилось 31.03.2021. Для сравнения качественных переменных использовался χ^2 -тест, количественных переменных – непараметрический U-критерий Вилкоксона–Манна–Уитни. Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$. Статистический анализ данных проводился с использованием программы IBM® SPSS Statistics, версия 23.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди 45 пациентов, включенных в исследование, у 33 (73,3%) развились посттрансплантационные осложнения, ассоциированные с вакциной БЦЖ (таблица): у 11 (24,4%) были признаки БЦЖита, у 22 (48,9%) – признаки генерализованной БЦЖ-ассоциированной инфекции. Возраст пациентов, включенных в исследование, на момент выполнения ТГСК, составил от 0,6 до 13 лет (средний возраст $2,6 \pm 0,4$ года, медиана 1,5 года). При этом достоверно меньше медиана возраста была в группе пациентов, развивших генерализованную БЦЖ-инфекцию после ТГСК (0,5 года), в отличие от пациентов без БЦЖ-ассоциированных осложнений (3,5 года). Характеристика групп пациентов с БЦЖ-ассоциированными осложнениями (БЦЖитом и генерализованной БЦЖ-инфекцией) после ТГСК представлена в таблице.

Доля пациентов с ПИД, развивших БЦЖ-ассоциированные осложнения в посттрансплантационном периоде, значимо ($p = 0,04$) различалась в зависимости от исходного диагноза: в то время как у 22 (84,6%) больных с ТКИН в посттрансплантационном периоде развились БЦЖ-ассоциированные осложнения, среди пациентов с ХГБ такие осложнения отмечались у 11 (57,9%) человек (рисунок 1).

Наличие БЦЖ-ассоциированных осложнений до ТГСК явилось значимым предиктором для развития посттрансплантационных БЦЖ-ассоциированных осложнений. Так, у пациентов с предтрансплантационным анамнезом БЦЖ-ассоциированных осложнений после ТГСК лишь у 16,7% таковые отсутствовали, в то время как у больных без БЦЖ-ассоциированных предтрансплантационных осложнений не было отмечено их развитие в 66,7% ($p = 0,01$; рисунок 2).

При этом ни у одного пациента с ХГБ и отсутствием БЦЖ-ассоциированных осложнений до трансплантации не развились такие осложнения в посттрансплантационном периоде. В то время как среди 6 больных с ТКИН, не имевших перед ТГСК БЦЖ-ассоциированных осложнений, в посттрансплантационном периоде у 2 отмечалось развитие БЦЖита, а у 1 – генерализованной БЦЖ-ассоциированной инфекции (таблица).

Таблица

Характеристика групп пациентов с БЦЖ-ассоцированными осложнениями после ТГСК

Table

Characteristics of the groups of patients with BCG vaccine-related complications after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT)

Характеристика Characteristic	Вся группа The whole group	Без осложнений No complications	БЦЖит BCGitis	Генерализованная БЦЖ-инфекция Generalized BCG infection	p
Число пациентов, n (%) Number of patients, n (%)	45 (100)	12 (26,7)	11 (24,4)	22 (48,9)	–
Медиана возраста пациентов на момент трансплантации, годы Median age at transplantation, years	1,5	3,5	1,0	0,5	0,02 ¹
Число пациентов с ТКИН, n (%) Number of SCID patients, n (%)	26 (57,8)	4 (15,4)	8 (30,8)	14 (53,8)	–
Число пациентов с ХГБ, n (%) Number of CGD patients, n (%)	19 (42,2)	8 (42,1)	3 (15,8)	8 (42,1)	–
Число пациентов с БЦЖ-ассоцированными осложнениями до ТГСК, n (%) Number of patients with BCG vaccine-related complications prior to HSCT, n (%)	36 (80,0)	6 (16,7)	10 (27,8)	20 (55,5)	0,01 ²
Число пациентов без БЦЖ-ассоцированных осложнений до ТГСК, n (%) Number of patients without any BCG vaccine-related complications prior to HSCT, n (%)	9 (20,0)	6 (66,7)	1 (11,1)	2 (22,2)	
Число пациентов с ХГБ без БЦЖ-ассоцированных осложнений до ТГСК, n (%) Number of CGD patients without any BCG vaccine-related complications prior to HSCT, n (%)	3 (6,7)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0,16 ³
Число пациентов с ТКИН без БЦЖ-ассоцированных осложнений до ТГСК, n (%) Number of SCID patients without any BCG vaccine-related complications prior to HSCT, n (%)	6 (13,3)	2 (33,3)	3 (50,0)	1 (16,7)	
Медиана восстановления лейкоцитов, дни Median time to leukocyte recovery, days	18,0	16,5	18,0	19,0	0,80
ОВ пациентов, % OS of patients, %	79,5 ± 6,6	80,2 ± 12,8	77,9 ± 14,1	79,7 ± 9,3	0,96

Примечание. ¹ – оценивались различия между группами пациентов без осложнений и группой больных с генерализованными осложнениями БЦЖ; ² – оценивались различия между группами пациентов (без БЦЖ-ассоцированных осложнений, с БЦЖитом и с генерализованной БЦЖ-инфекцией после ТГСК) в зависимости от наличия БЦЖ-ассоцированных осложнений до ТГСК; ³ – оценивались различия между группами пациентов (без БЦЖ-ассоцированных осложнений, с БЦЖитом и с генерализованной БЦЖ-инфекцией после ТГСК) в зависимости от исходного диагноза (ХГБ или ТКИН)

Notes. SCID – severe combined immunodeficiency; CGD – chronic granulomatous disease; OS – overall survival; ¹ – we assessed the differences between the groups of patients without any complications and the group of patients with generalized BCG complications; ² – we assessed the differences between the groups of patients (without any BCG vaccine-related complications, with BCGitis and with generalized BCG infection after HSCT) according to the presence or absence of BCG vaccine-related complications prior to HSCT; ³ – we assessed the differences between the groups of patients (without any BCG vaccine-related complications, with BCGitis and with generalized BCG infection after HSCT) according to the primary diagnosis (CGD or SCID)

Сроки восстановления лейкопоза после ТГСК достоверно не отличались в различных группах пациентов с БЦЖ-ассоцированными осложнениями после ТГСК ($p = 0,80$), медиана времени восстановления лейкопоза для всей группы пациентов составила 18 дней (таблица).

Генерализованная БЦЖ-ассоциированная инфекция клинически проявлялась поражением различных локусов в организме (рисунок 3), лихорадкой и нередко присоединением воспалительного синдрома восстановления иммунитета.

У части пациентов инфекционные очаги обнаруживались на коже, в подкожной клетчатке (рисунок 4), в легких, печени, в лимфатических узлах, у 1 больного воспалительные гранулемы были выявлены в биоптате участка тонкой кишки, удаленной в ходе оперативного вмешательства по поводу странгуляционной кишечной непроходимости.

У пациентов с ТКИН течение БЦЖ-ассоциированных осложнений часто имело волнообразный характер, нередко реактивация инфекционного процесса отмечалась на фоне иммунной реконструкции уже после 60-го и даже 100-го дня после ТГСК. При этом кумулятивная вероятность разрешения осложнений к 100-му дню после ТГСК была достоверно выше ($p < 0,001$; рисунок 5) у пациентов с дефектом фагоцитоза в отличие от больных с дефицитом Т-клеток, у пациентов с ХГБ она составила 100%, с ТКИН – $68,4 \pm 10,7\%$. Медиана редукции проявлений БЦЖ-инфекции у пациентов с ХГБ составила 30 (20–100) дней, у больных с ТКИН – 100 (50–370) дней ($p < 0,001$).

Из всей группы включенных в исследование пациентов умерли 8: от инфекционно-септических осложнений – 5 больных, от кровоизлияния в головной мозг на фоне инфекционного поражения эндо-

тения сосудов и нарушения гемостаза – 2, причиной смерти 1 пациента стал диффузный альвеолярный геморраж. Непосредственно БЦЖ-ассоциированные осложнения не явились причиной летальности ни у одного из пациентов. ОВ всей группы больных,

Рисунок 1

Доля пациентов с БЦЖ-ассоциированными осложнениями после ТГСК в зависимости от исходного диагноза (ТКИН или ХГБ)

Figure 1
The proportion of patients with BCG vaccine-related complications after HSCT according to the primary diagnosis (SCID or CGD)

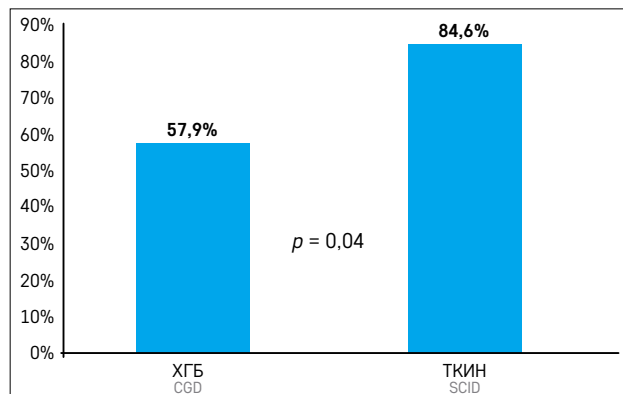


Рисунок 2

БЦЖ-ассоциированные осложнения после ТГСК в зависимости от их наличия до трансплантации

Figure 2

BCG vaccine-related complications after HSCT according to the presence or absence of BCG complications prior to transplantation

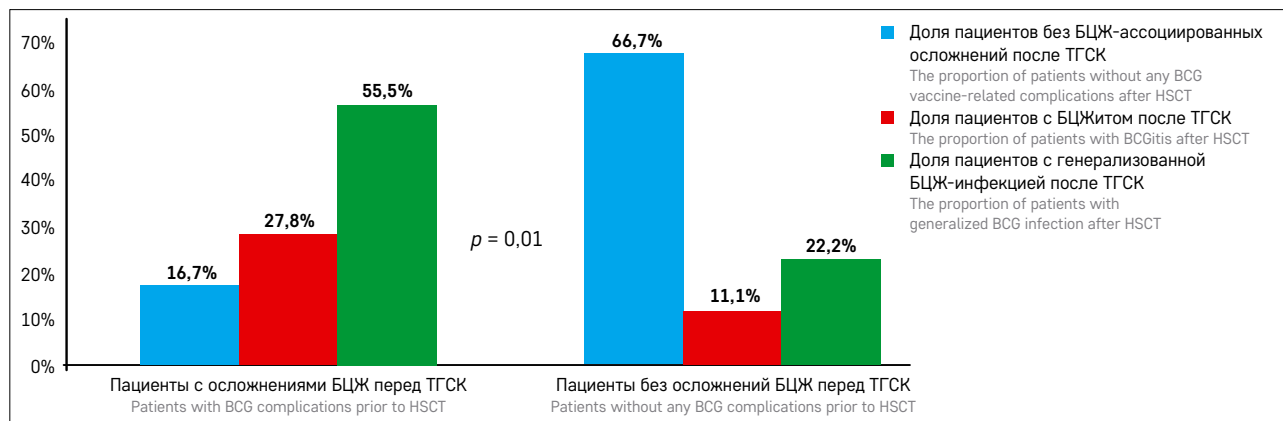
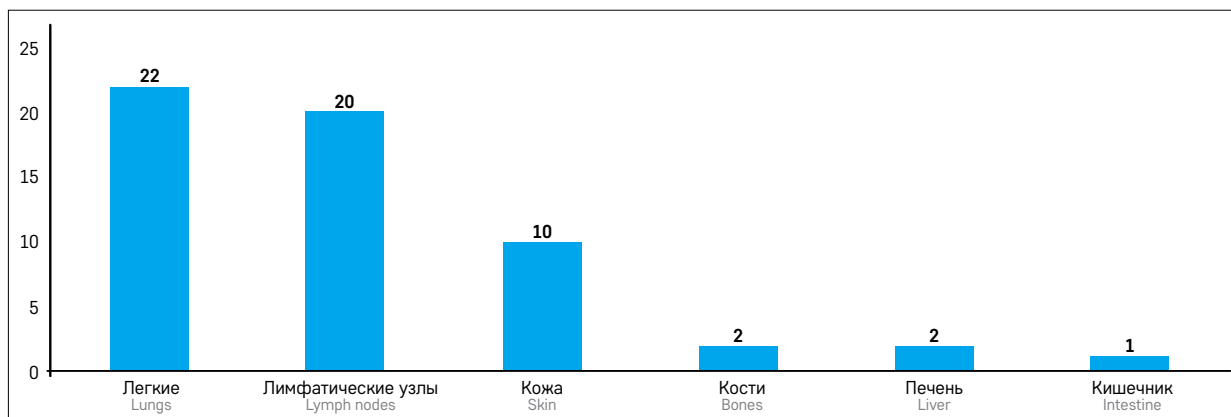


Рисунок 3

Локусы поражения при генерализованной БЦЖ-инфекции

Figure 3

Areas of involvement in generalized BCG infection



включенных в исследование, составила $79,5 \pm 6,6\%$ (таблица, рисунок 6).

Не было обнаружено значимых различий в ОВ между группами пациентов без БЦЖ-ассоциированных осложнений, с БЦЖитом и с генерализованной БЦЖ-инфекцией после ТГСК: $80,2 \pm 12,8\%$, $77,9 \pm 14,1\%$, $79,7 \pm 9,3\%$ соответственно ($p = 0,96$; таблица).

Также не отмечено значимых различий в ОВ между группами пациентов с предтрансплантационными осложнениями БЦЖ ($76,1 \pm 8,2\%$) и без таковых ($88,9 \pm 10,5\%$; $p = 0,47$) и между группами больных с ХГБ ($85,3 \pm 10,1\%$) и ТКИН ($74,7 \pm 9,1\%$; $p = 0,28$; рисунок 7).

Следует отметить, что у части пациентов до ТГСК профилактический прием антимикобактериальных препаратов был нерегулярным, прерывистым либо они были отменены на длительный срок полностью. У 3 таких пациентов с ХГБ отмечалось наиболее длительное и тяжелое течение БЦЖ-ассоциированных осложнений после ТГСК, при этом у больных, непрерывно принимавших противотуберкулезные препараты до трансплантации, осложнения БЦЖ были купированы практически сразу после восстановления

Рисунок 4

Множественные воспалительные очаги с некрозом кожи и подкожной клетчатки при генерализованной БЦЖ-ассоциированной инфекции у пациента с ТКИН после ТГСК

Figure 4

Multiple inflammatory foci with necrosis of the skin and subcutaneous tissue in generalized BCG-related infection in the patient with SCID after HSCT



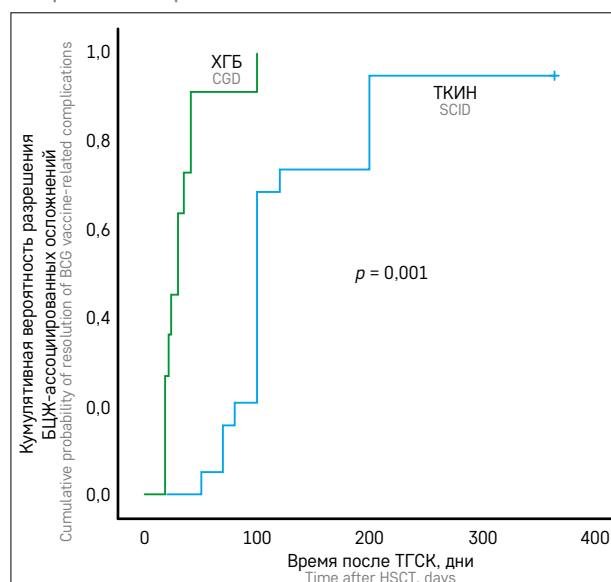
функции трансплантата. У пациентов с ТКИН течение БЦЖ-ассоциированных осложнений в ряде случаев было длительным, проявления инфекции сохранялись, несмотря на комплексную терапию, восстановление числа лимфоцитов и купирование всех остальных посттрансплантационных осложнений (рисунок 5), у 1 больного течение генерализованной БЦЖ-ассоциированной инфекции продолжалось до 12 мес. У 4 пациентов длительное течение БЦЖита с поражением регионарных лимфоузлов после ТГСК потребовало хирургического лечения – иссечения пораженных тканей. У 18 (54,5%) пациентов с БЦЖ-ассоциированными осложнениями в посттрансплантационном периоде отмечалось развитие воспалительного синдрома восстановления иммунитета, для купирования которого применялись различные комбинации противовоспалительных препаратов: у всех больных использовались глюкокортикостероиды, в 11 (61,1%) случаях успешно применялся антагонист рецептора интерлейкина-6 (тоцилизумаб), у 2 (11,1%) пациентов с диссеминированным БЦЖ-ассоциированным поражением мягких тканей применение антагониста рецептора интерлейкина-1 (анакинра) показало клиническую эффективность – интенсивность и распространенность воспалительных очагов стали менее выраженными. Следует отметить, что развитие воспалительного синдрома восстановления иммунитета развивалось у пациентов на фоне полиэтиологического инфекционного процесса, обусловленного не только БЦЖ-этиологией, но и грибковой, вирусной, сочетанной бактериальной этиологией.

Рисунок 5

Кумулятивная вероятность разрешения БЦЖ-ассоциированных осложнений у пациентов с ХГБ и ТКИН после ТГСК

Figure 5

The cumulative probability of resolution of BCG vaccine-related complications in patients with CGD and SCID after HSCT



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В представленном ретроспективном наблюдательном исследовании показана характеристика пациентов с ПИД после ТГСК, которые были планово привиты вакциной БЦЖ. Считается, что больные с дефицитом Т-лимфоцитов подвержены более высокому риску развития осложнений, связанных с вакциной БЦЖ, по сравнению с пациентами с

дефектом фагоцитарного звена, что указывает на ключевую роль Т-клеток в контроле течения микобактериальной инфекции [22]. Несмотря на отсутствие в литературе [23] описания развития БЦЖ-ассоциированных осложнений у пациентов с ХГБ после ТГСК, в нашем исследовании мы могли наблюдать даже генерализованные формы осложнений БЦЖ у таких пациентов с затяжным течением вплоть до 100-го дня после трансплантации. Вероятно, у части пациентов с ХГБ, включенных в данное исследование, развитие ассоциированных с БЦЖ осложнений было связано с нарушением режима антимикобактериальной профилактики до ТГСК. Достоверно меньше

Рисунок 6

ОВ всей группы пациентов

Figure 6

OS of the whole group of patients

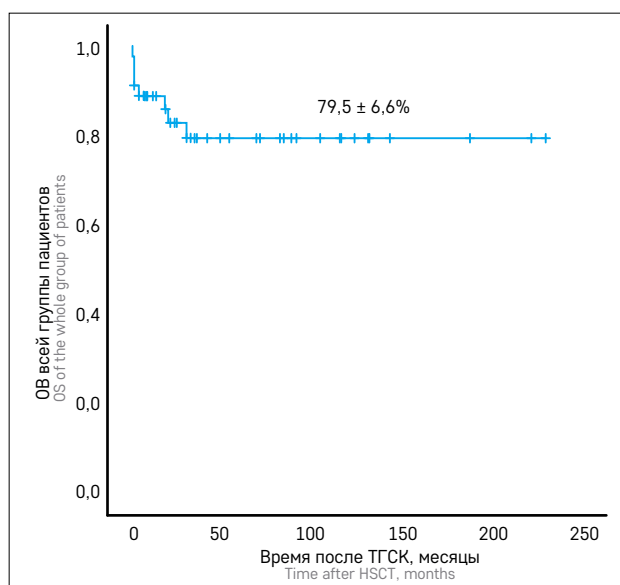
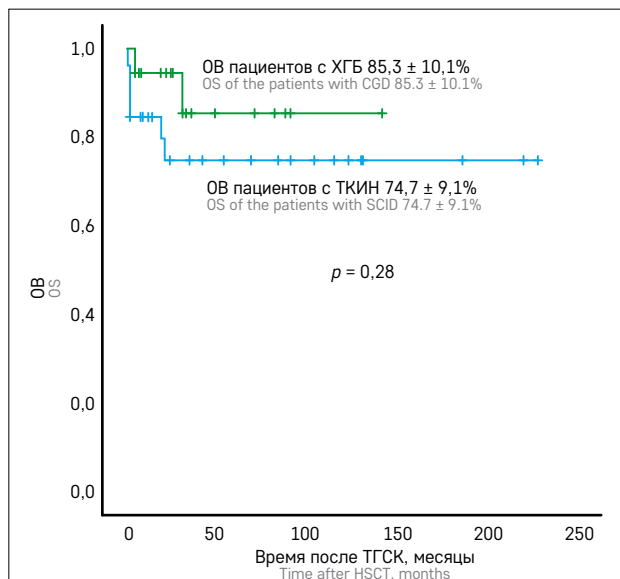


Рисунок 7

ОВ пациентов с ХГБ и ТКИН (слева) и пациентов с наличием и без предтрансплантационных БЦЖ-ассоциированных осложнений (справа)

Figure 7

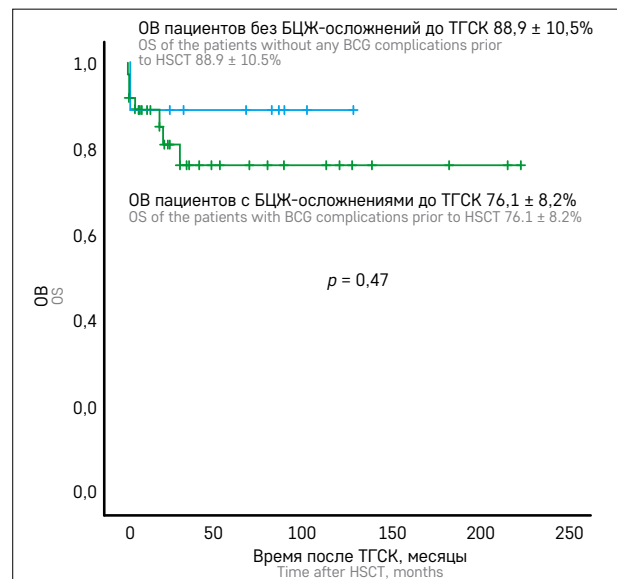
The OS of the patients with CGD and SCID (on the left) and the OS of the patients with and without pre-transplant BCG-related complications (on the right)



оказалась медиана возраста на момент выполнения трансплантации в группе пациентов, развивших генерализованную БЦЖ-инфекцию после ТГСК (0,5 года), в отличие от больных без посттрансплантационных БЦЖ-ассоциированных осложнений (3,5 года), что, по-видимому, связано с изначально более тяжелым течением инфекционных осложнений и ранней манифестацией проявлений ПИД в группе пациентов с генерализованной БЦЖ-ассоциированной инфекцией, а соответственно, и более ранним выполнением у них ТГСК.

ОВ в группах пациентов с ХГБ и ТКИН в нашем исследовании достоверно не отличалась, как не отличалась она и в группах больных без БЦЖ-ассоциированных осложнений, пациентов с БЦЖитом и генерализованной БЦЖ-инфекцией в посттрансплантационном периоде. Также не было значимых различий в ОВ между группами пациентов с предтрансплантационными БЦЖ-ассоциированными осложнениями и без таковых. Кроме того, ни у одного из погибших пациентов, включенных в наше исследование, БЦЖ-ассоциированные осложнения не явились непосредственной причиной смерти, хотя в литературе описаны случаи посттрансплантационной летальности, обусловленной осложнениями БЦЖ [2].

У большинства пациентов с ХГБ в нашем исследовании осложнения, ассоциированные с БЦЖ, разрешались достоверно быстрее (к 100-му дню в 100% случаев), чем у больных с ТКИН (к 100-му дню лишь у 68,4% пациентов отмечалось разрешение осложнений), многие из которых даже после успешно проведенной трансплантации, восстановления количества лимфоцитов и разрешения всех



посттрансплантационных осложнений продолжали страдать от осложнений БЦЖ и получать комбинированную антимикобактериальную терапию в условиях стационара. Тяжелое и длительное течение БЦЖ-ассоциированных осложнений у пациентов с ТКИН, по-видимому, связано с их исходно более тяжелым инфекционным и соматическим статусом в связи с комбинированным иммунодефицитом, дефицитом Т-клеток, с последующей более медленной иммунной реконституцией в посттрансплантационном периоде.

Наличие осложнений, ассоциированных с БЦЖ, до трансплантации явилось значимым предиктором развития таких осложнений в посттрансплантационном периоде, но не влияло на ОВ пациентов. Интенсивность терапии осложнений БЦЖ после ТГСК возрастала у пациентов с генерализованными формами инфекции, когда помимо 3–4 антимикобактериальных препаратов нередко назначались лекарственные средства, направленные на купирование воспалительного синдрома восстановления иммунитета, – глюкокортикостероиды, антагонисты рецепторов интерлейкинов-6 и -1. Воспалительный синдром восстановления иммунитета, ассоциированный с БЦЖ-инфекцией, у пациентов в посттрансплантационном периоде описан в недавнем исследовании A. Laberko и соавт. (2020) у пациентов с ТКИН [18]. В нашем исследовании у 54,5% пациентов на фоне восстановления иммунитета отмечалось развитие лихорадки, системного воспаления с повышением провоспалительных маркеров и клиническим ухудшением инфекционного процесса. Однако, учитывая полиэтиологичный инфекционный процесс (микобактериальный, вирусно-бактериальный, грибковый) у всех данных пациентов, ассоциировать воспалительный синдром восстановления иммунитета у больных в нашем исследовании исключительно с БЦЖ-инфекцией не представляется возможным. Тем не менее эскалация антимикобактериальной, антибактериальной, противогрибковой терапии, а также подключение противовоспалительных препаратов (глюкокортикостероиды, антагонисты интерлейкинов-1 и -6) привели к успешному купированию данного осложнения у всех пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, БЦЖ-ассоциированные осложнения у пациентов с ПИД после ТГСК являются серьезной проблемой для клинициста, поскольку

значимо утяжеляют течение посттрансплантационного периода, нередко носят затяжной характер и плохо поддаются стандартному антимикобактериальному лечению, а также, по данным литературы, в тяжелых случаях могут стать причиной летальности. Генерализованная БЦЖ-ассоциированная инфекция после ТГСК наблюдается как при ТКИН, так и при ХГБ, может сопровождаться воспалительным синдромом восстановления иммунитета, несмотря на соответствующее лечение антимикобактериальными препаратами, требует эскалации антимикробной терапии и подключения противовоспалительных препаратов (глюкокортикостероиды, антицитокиновые препараты). Предтрансплантационная БЦЖ-ассоциированная инфекция – существенный негативный прогностический фактор для развития осложнений после ТГСК. Подробный медицинский и семейный анамнез до введения вакцины БЦЖ имеет решающее значение в предотвращении развития БЦЖ-ассоциированных осложнений у пациентов с ПИД. Перспективной также представляется разработка новых видов противотуберкулезных вакцин, безопасных для пациентов с ПИД. Важное значение имеет соблюдение непрерывной профилактической схемы приема антимикобактериальных препаратов у больных с установленным диагнозом ТКИН или ХГБ, которые получили после рождения вакцину БЦЖ. Кроме того, необходима разработка основанных на обмене опытом и клинических доказательных исследованиях рекомендаций по профилактике и лечению БЦЖ-ассоциированных осложнений у пациентов с ПИД как до, так и после ТГСК.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Machneva E.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2395-4045>

Mezentseva A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3211-6158>

Olkhova L.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7531-6443>

Pristanskova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4569-657X>

Burya A.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4170-7152>

Konstantinova V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2652-8642>

Filina O.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2136-3287>

Nikolaeva Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7034-1730>

Svetacheva A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0040-2881>

Blagonravova O.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1587-3256>

Kirghizov K.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2945-284X>

Skorobogatova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4431-1444>

Литература

- WHO. Global tuberculosis report 2019. WHO; 2020. Доступно по: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2020>. Ссылка активна на 26.04.2021.
- NaserEddin A., Dinur-Schejter Y., Shadur B., Zaidman I., Even-Or E., Averbuch D., et al. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) Vaccine-associated Complications in Immunodeficient Patients Following Stem Cell Transplantation. *J Clin Immunol* 2021; 41 (1): 147–62. DOI: 10.1007/s10875-020-00892-6
- Zwerling A., Behr M.A., Verma A., Brewer T.F., Menzies D., Pai M. The BCG World Atlas: a database of global BCG vaccination policies and practices. *PLoS Med* 2011; 8 (3): e1001012. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001012
- Ying W., Sun J., Liu D., Hui X., Yu Y., Wang J., Wang X. Clinical characteristics and immunogenetics of BCGosis/BCGitis in Chinese children: a 6 year follow-up study. *PLoS One* 2014; 9 (4): e94485. DOI: 10.1371/journal.pone.0094485
- Zufferey C., Germano S., Dutta B., Ritz N., Curtis N. The contribution of non-conventional T cells and NK cells in the mycobacterial-specific IFN γ response in Bacille Calmette-Guérin (BCG)-immunized infants. *PLoS One* 2013; 8 (10): e77334. DOI: 10.1371/journal.pone.0077334
- Marciano B.E., Huang C.Y., Joshi G., Rezaei N., Carvalho B.C., Allwood Z., et al. BCG vaccination in patients with severe combined immunodeficiency: complications, risks, and vaccination policies. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133 (4): 1134–41. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.02.028
- Hesseling A.C., Rabie H., Marais B.J., Manders M., Lips M., Schaaf H.S., et al. Bacille Calmette-Guérin vaccine-induced disease in HIV-infected and HIV-uninfected children. *Clin Infect Dis* 2006; 42 (4): 548–58. DOI: 10.1086/499953
- Fekrvand S., Yazdani R., Olbrich P., Genery A., Rosenzweig S.D., Condino-Neto A., et al. Aghamohammadi A. Primary Immunodeficiency Diseases and Bacillus Calmette-Guérin (BCG)-Vaccine-Derived Complications: A Systematic Review. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020; 8 (4): 1371–86. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.01.038
- Norouzi S., Aghamohammadi A., Mami-shi S., Rosenzweig S.D., Rezaei N.J. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) complications associated with primary immunodeficiency diseases. *Infect* 2012; 64 (6): 543–54. DOI: 10.1016/j.jinf.2012.03.012
- Canessa C., Romano F., Lippi F., Bianchi L., Kashef S., Rezaei N., et al. Bcgitis and vaccine-derived poliovirus infection in a patient with a novel deletion in RAG1 binding site. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2013; 26 (2): 511–5. DOI: 10.1177/039463201302600225
- Fischer A., Notarangelo L.D., Neven B., Cavazzana M., Puck J.M. Severe combined immunodeficiencies and related disorders. *Nat Rev Dis Primers* 2015; 1: 15061. DOI: 10.1038/nrdp.2015.61
- Roxo-Junior P., Silva J., Andrea M., Oliveira L., Ramalho F., Bezerra T., Nunes A.A. A family history of serious complications due to BCG vaccination is a tool for the early diagnosis of severe primary immunodeficiency. *Ital J Pediatr* 2013; 39: 54. DOI: 10.1186/1824-7288-39-54
- Bukhari E., Alaklobi F., Bakheet H., Alrabiah A., Alotibi F., Aljobair F., et al. Disseminated bacille Calmette-Guérin disease in Saudi children: clinical profile, microbiology, immunology evaluation and outcome. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016; 20 (17): 3696–702. PMID: 27649674.
- Rosain J., Kong X.F., Martinez-Barriarte R., Oleaga-Quintas C., Ramirez-Alejo N., Markle J., et al. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: 2014–2018 update. *Immunol Cell Biol* 2019; 97 (4): 360–7. DOI: 10.1111/imcb.12210
- Zhou Q., Hui X., Ying W., Hou J., Wang W., Liu D., et al. A Cohort of 169 Chronic Granulomatous Disease Patients Exposed to BCG Vaccination: a Retrospective Study from a Single Center in Shanghai, China (2004–2017). *J Clin Immunol* 2018; 38 (3): 260–72. DOI: 10.1007/s10875-018-0486-y
- Naselli A., Losurdo G., Giardino S., Morreale G., Savioli C., Castagnola E. Successful management of cutaneous BCG dissemination in a child affected by SCID and receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (12): 1572. E20.
- Pariyaprasert W., Pacharn P., Visitsunthorn N., Chokephaibulkit K., Sanpakit K., Viprakasit V., et al. Successful treatment of disseminated BCG infection in a SCID patient with granulocyte colony stimulating factor. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2008; 26 (1): 71.
- Laberko A., Yukhacheva D., Rodina Y., Abramov D., Kononov D., Radygina S., et al. BCG-Related Inflammatory Syndromes in Severe Combined Immunodeficiency After TCR $\alpha\beta$ /CD19 $^{+}$ Depleted HSCT. *J Clin Immunol* 2020; 40 (4): 625–36. DOI: 10.1007/s10875-020-00774-x. Epub 2020 May 6. PMID: 32377975.
- Dhasmana D.J., Dheda K., Ravn P., Wilkinson R.J., Meintjes G. Immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: pathogenesis, clinical manifestations and management. *Drugs* 2008; 68 (2): 191–208. DOI: 10.2165/00003495-200868020-00004. PMID: 18197725.
- Sereti I., Sheikh V., Shaffer D., Phanuphak N., Gabriel E., Wang J., et al. Prospective International Study of Incidence and Predictors of Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome and Death in People Living With Human Immunodeficiency Virus and Severe Lymphopenia. *Clin Infect Dis* 2020; 71 (3): 652–60. DOI: 10.1093/cid/ciz877
- Shearer W.T., Dunn E., Notarangelo L.D., Dvorak C.C., Puck J.M., Logan B.R., et al. Establishing diagnostic criteria for severe combined immunodeficiency disease (SCID), leaky SCID, and Omenn syndrome: the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium experience. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133 (4): 1092–8. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.09.044
- Moliva J.L., Turner J., Torrelles J.B. Immune Responses to Bacillus Calmette-Guérin Vaccination: Why Do They Fail to Protect against Mycobacterium tuberculosis? *Front Immunol* 2017; 8: 407. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00407
- Lin C.J., Wang S.C., Ku C.L., Kao J.K., Chen M., Liu C.S. Successful Unrelated Cord Blood Stem Cell Transplantation in an X-linked Chronic Granulomatous Disease Patient with Disseminated BCG-induced Infection. *Pediatr Neonatol* 2015; 56 (5): 346–50. DOI: 10.1016/j.pedneo.2013.04.001

10.24287/1726-1708-2021-20-2-143-147

ЦНС-рецидив В-лимфобластной лимфомы после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: терапия донорскими CD19-специфичными CAR-T-лимфоцитами

О.О. Молостова, Л.Н. Шелихова, Д.Е. Першин, А.М. Попов, М.Э. Дубровина, М.А. Климентова, А.А. Масчан, М.А. Масчан

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

На сегодняшний день нет единого мнения относительно оптимальной тактики лечения рецидивов В-линейного острого лимфобластного лейкоза/лимфомы после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), в особенности при наличии экстрамедуллярных очагов поражения. Существует определенный набор противоопухолевых препаратов, которые можно применять в случае рецидива после алло-ТГСК, однако проспективные рандомизированные исследования, которые напрямую бы сравнивали различные подходы к химиотерапии и иммунотерапии, практически отсутствуют. Ретроспективные исследования терапии рецидивов трудно сравнивать из-за неоднородности популяций пациентов и терапевтических подходов. В таких ситуациях на выбор терапии влияют характеристики опухолевой популяции, в частности ее иммунофенотип, доступные препараты, а также опыт медицинского учреждения и врачей. Представленный клинический случай демонстрирует процесс лечения пациента с В-лимфобластной лимфомой и возможность применения донорских CD-19-специфичных CAR-T-лимфоцитов в качестве терапии изолированного ЦНС-рецидива после алло-ТГСК. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, рецидив, В-лимфобластная лимфома, CAR-T-лимфоциты

Молостова О.О. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 143–147. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-143-147

CNS relapse of B-lymphoblastic lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: therapy with donor CD19-specific CAR-T cells

O.O. Molostova, L.N. Shelikhova, D.E. Pershin, A.M. Popov, M.E. Dubrovina, M.A. Klimentova, A.A. Maschan, M.A. Maschan

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Presently, there is no consensus on the best treatment for relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT), particularly in patients with extramedullary lesions. There are certain anti-tumor drugs that can be used in case of relapse after allo-HSCT, however, prospective randomized studies directly comparing different chemotherapy and immunotherapy approaches are generally lacking. Retrospective studies exploring therapy for relapsed disease are difficult to compare due to the inhomogeneity of patient populations and the diversity of treatment approaches. In such situations, the treatment choice is influenced by the characteristics of the tumor population, particularly, its immunophenotype, available drugs, and the experience of a healthcare facility and physicians. This clinical case report describes the process of treating a patient with B-lymphoblastic lymphoma and shows the possibility of using donor CD19-specific CAR-T cells as a treatment for isolated CNS relapse after allo-HSCT. The patient's parents gave their consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, relapse, B-lymphoblastic lymphoma, CAR-T cells

Molostova O.O., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 143–147. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-143-147

Основной причиной смертности пациентов с В-клеточными лейкозами/лимфомами после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является развитие рецидива основного заболевания [1]. Безрецидивная выживаемость зависит от характеристик самого заболевания,

его статуса перед ТГСК, а также составляющих ТГСК (выбор донора, кондиционирование, состав трансплантата) [2]. Лечебные опции для пациентов с рецидивами В-лимфобластных лейкозов/лимфом после ТГСК крайне лимитированы. К ним можно отнести инфузии донорских лимфоцитов, высокодо-

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 02.04.2021
Принята к печати 23.04.2021

Контактная информация:

Шелихова Лариса Николаевна, канд. мед. наук, заведующая отделением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток №1 НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: lnik1976@mail.ru

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 02.04.2021

Accepted 23.04.2021

Correspondence:

Larisa N. Shelikhova, cand. med. sci., Head of the Department of Hematopoietic Stem Cell Transplantation No.1, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: lnik1976@mail.ru

зную химиотерапию, лучевую терапию, применение таргетных препаратов и моноклональных антител. Данные опции как в варианте монотерапии, так и в комбинациях показывают ограниченную эффективность. Примерно 20–30% пациентов с рецидивом В-клеточного лейкоза/лимфомы имеют поражение центральной нервной системы (ЦНС), что при условии уже проведенного краниального облучения и/или тотального облучения тела в составе кондиционирования перед ТГСК еще больше сужает возможности терапии. Даже в случае достижения ремиссии пациентам с рецидивами после трансплантации в качестве консолидации требуется проведение повторной аллогенной ТГСК от альтернативного донора. Однако результаты повторных трансплантаций также не гарантируют высокого уровня выживаемости, по данным ретроспективного исследования рабочей группы EBMT, 5-летняя выживаемость пациентов с острым лимфобластным лейкозом после повторной трансплантации составляет 31% [3].

На фоне неудовлетворительных результатов терапии рецидивов В-клеточных новообразований после ТГСК многообещающим выглядит применение CAR-T-лимфоцитов. CAR-T-лимфоциты представляют собой Т-лимфоциты, экспрессирующие на поверхности химерный антигенный рецептор (CAR), способный распознавать определенный антиген на поверхности клеток. Аутологичные CAR-T-лимфоциты, специфичные к антигену CD19, продемонстрировали высокую активность у пациентов с В-линейными злокачественными заболеваниями в клинических исследованиях [4, 5]. Однако данные о применении донорских CD19-специфичных CAR-T-лимфоцитов после аллогенной ТГСК ограничиваются описаниями клинических случаев и наблюдениями за малыми группами пациентов. Это обосновано в первую очередь ролью Т-клеток в развитии реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и высокими рисками индуцировать ее развитие, что ограничивает применение метода у пациентов, уже имеющих проявления РТПХ [6, 7]. Также в аллогенной среде активация CAR-T-лимфоцитов может быть более выраженной, что может привести к тяжелому синдрому выброса цитокинов [8]. На настоящий момент не опубликованы результаты полноценных клинических исследований, посвященных этой теме. Кроме того, пациенты детского возраста с изолированным ЦНС-рецидивом после аллогенной ТГСК не рассматриваются в литературе отдельно, поэтому оценить их шансы на достижение и поддержание ремиссии при внутривенном введении CAR-T-лимфоцитов при условии отсутствия опухолевой мишени в периферической крови и костном мозге крайне затруднительно.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Мальчик, 15 лет, болен с апреля 2018 г., когда появились болезненность и увеличение левого яичка, снижение слуха. По данным ультразвукового исследования мошонки левое яичко увеличено в размерах до 3,8 × 2,2 см, признаки очагового образования. Выполнена орхфуникулэктомия слева, по данным гистологического исследования выявлена В-лимфобластная лимфома. По данным магнитно-резонансной томографии обнаружено множественное очаговое поражение головного мозга. В миелограмме опухолевых клеток не выявлено. Пациенту установлен диагноз: В-лимфобластная лимфома с поражением головного мозга, левого яичка. Начата терапия по протоколу NHL-BFM: EURO-LB 02, зафиксирована первая ремиссия. Пациенту выполнено краниальное облучение в суммарной очаговой дозе 18 Гр, начата поддерживающая терапия.

В июле 2019 г. зарегистрирован ранний комбинированный рецидив с поражением ЦНС (бластные клетки в ликворе), крыловидных мышц с двух сторон, левой височной мышцы, подчелюстных и шейных лимфатических узлов, костный мозг оставался интактным. Начата терапия по протоколу ALL-MB-REZ-2016: циторедуктивная фаза, блок FLAI, курс блинатумомаба с введением аутолимфоцитов. После курса блинатумомаба патологического накопления радиофармпрепарата по данным позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, в ранее пораженных областях не отмечалось, в ликворограмме бластные клетки не выявлялись, однако по данным исследования ликвора методом проточной цитометрии обнаружены единичные опухолевые клетки.

Принято решение о проведении аллогенной ТГСК от родственного 10/10 HLA-совместимого донора (сестры). По техническим причинам отсутствовала возможность включения тотального облучения тела в состав кондиционирования, выполнено краниальное облучение в суммарной очаговой дозе 18 Гр. Проведено кондиционирование в составе: треосульфат 42 г/м² + тиотепа 10 мг/кг + флударабин 150 мг/м² + велкейд 2,6 мг/м² + орения 10 мг/кг + актемра 8 мг/кг + ритуксимаб 100 мг/м². В декабре 2019 г. выполнена инфузия периферических стволовых клеток крови с процессингом трансплантата с TCRαβ/CD19-деплецией от полностью HLA-совместимого родственного донора (сестры). В качестве профилактики РТПХ использовался бортезомиб

1,3 мг/м² на +2-е, +5-е сутки и абатацепт 10 мг/кг на +7-е, +14-е, +28-е сутки. Было зафиксировано приживление лейкоцитарного ростка трансплантата на +10-е сутки, мегакариоцитарного ростка на +11-е сутки. Нейтропенический энтероколит, стоматит купировались на фоне приживления лейкоцитарного ростка трансплантата. Признаков РТПХ не отмечалось.

На +30-е сутки от ТГСК проведено обследование: миелограмма, ликворограмма, исследование костного мозга и ликвора методом проточной цитометрии, магнитно-резонансная томография головного мозга, установлена ремиссия основного заболевания. На +60-е сутки от ТГСК по данным миелограммы, ликворограммы, позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, с 5-фтордезоксиглюкозой сохранялась ремиссия, однако по данным исследования ликвора методом проточной цитометрии обнаружены опухолевые клетки, экспрессия маркеров CD19 и CD22 выявлена в 100% опухолевой популяции.

Проведена клеточная терапия CD45RA-деплементированными лимфоцитами в дозе 50 тыс/кг внутривенно, также выполнено два интравентрикулярных введения (цитозар 30 мг, дексаметазон 2 мг). Однако после проведенной терапии в ликворе по-прежнему определялись опухолевые клетки, как морфологически, так и методом проточной цитометрии.

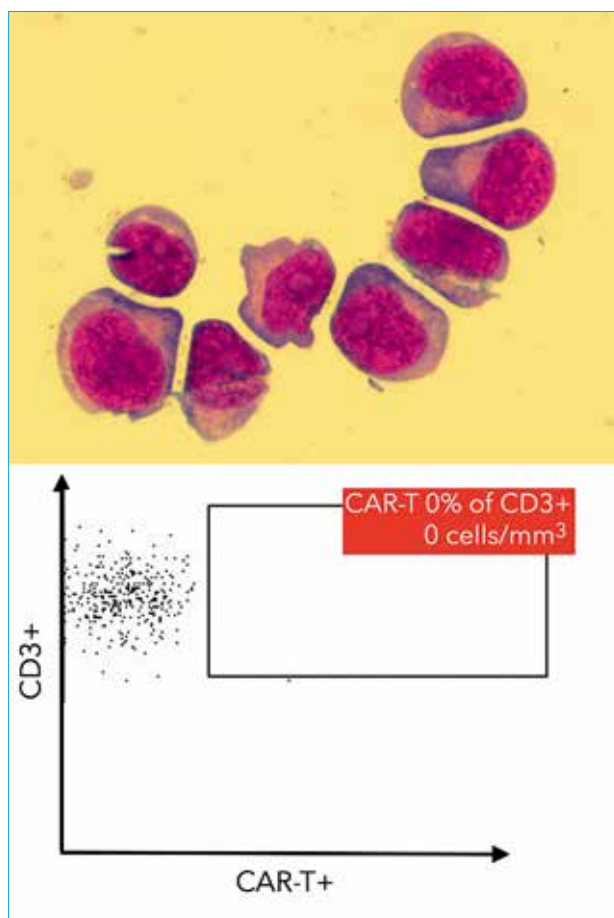
В связи с сохраняющейся персистенцией опухолевых клеток в ликворе и отсутствием иных эффективных методов лечения принято решение о проведении терапии аллогенными CD-19-специфичными CAR-T-лимфоцитами от донора периферических стволовых клеток крови (сестры). Произведен аферез донорских лейкоцитов с последующим изготовлением CAR-T-лимфоцитов в автоматизированном закрытом биореакторе CliniMACs Prodigy в течение 7 дней. Пациенту проведена лимфодеплетирующая химиотерапия – флударабин в суммарной дозе 90 мг/м².

В марте 2020 г. выполнено введение донорских CD-19-специфичных CAR-T-лимфоцитов в дозе 100 тыс/кг. За 1 ч до введения CAR-T-лимфоцитов была выполнена инфузия тоцилизумаба 8 мг/кг в качестве профилактики синдрома выброса цитокинов.

На +10-е сутки от терапии отмечены проявления синдрома выброса цитокинов I степени: стойкий фебрилитет, проявления CAR-T-ассоциированной нейротоксичности I степени в виде сонливости, головной боли, тошноты, рвоты, тремора верхних конечностей. Проводилась терапия тоцилизумабом 8 мг/кг, дексаметазоном 0,4 мг/кг, петлевыми диуретиками, маннитолом, на фоне лечения отмечалось купирование проявлений.

Рисунок 1
Цитологическое и иммунофенотипическое исследование ликвора на +7-е сутки от CAR-T-терапии

Figure 1
Cytological examination and immunophenotyping of CSF on Day +7 post CAR-T therapy



На +7-е сутки от терапии при цитологическом исследовании ликвора клеточный состав полностью представлен бластными клетками (100%). Персистенция CAR-T-лимфоцитов в ликворе отсутствует, в периферической крови – 0,86% (рисунок 1).

На +11-е сутки материал с высокой клеточностью, клеточный состав представлен бластными клетками (34%) и лимфоцитами (53%). Цитометрически выявляются опухолевые клетки. Персистенция CAR-T-лимфоцитов в ликворе 8% (рисунок 2).

На +14-е сутки цитологически и иммунофенотипически популяция опухолевых клеток не выявлена. Персистенция CAR-T-лимфоцитов в ликворе 55% (рисунок 3).

В дальнейшем проводилось обследование в контрольные точки +28 сут, +2 мес, +6 мес, +8 мес, + 1 год от проведения терапии. Персистенция CAR-T-лимфоцитов в ликворе прекратилась спустя 6 мес после лечения. На сроке +1 год от терапии у пациента сохраняется полная ремиссия и персистенция CAR-T-лимфоцитов в крови 0,297%.

Рисунок 2

Цитологическое и иммунофенотипическое исследование ликвора на +11-е сутки от CAR-T-терапии

Figure 2

Cytological examination and immunophenotyping of CSF on Day +11 post CAR-T therapy

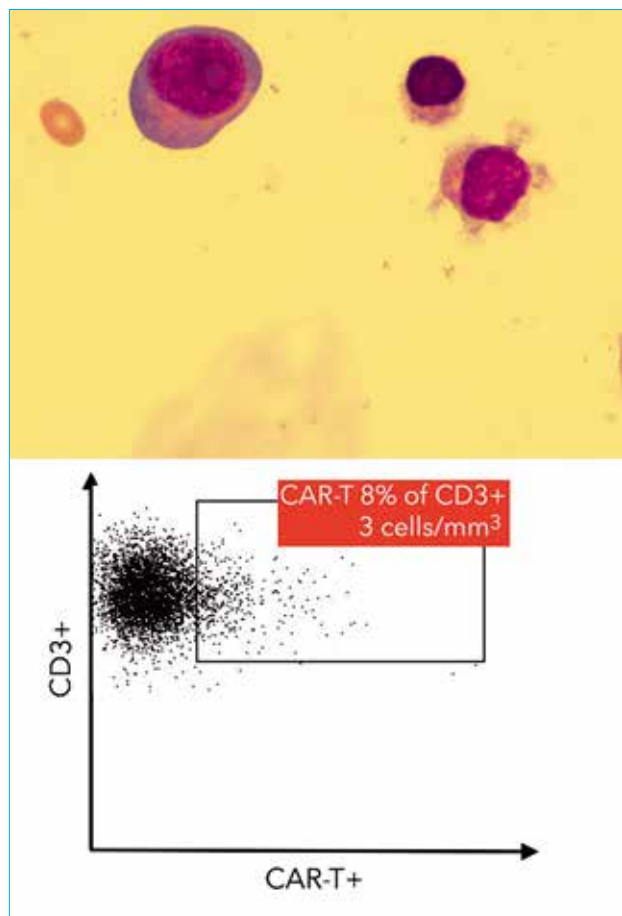
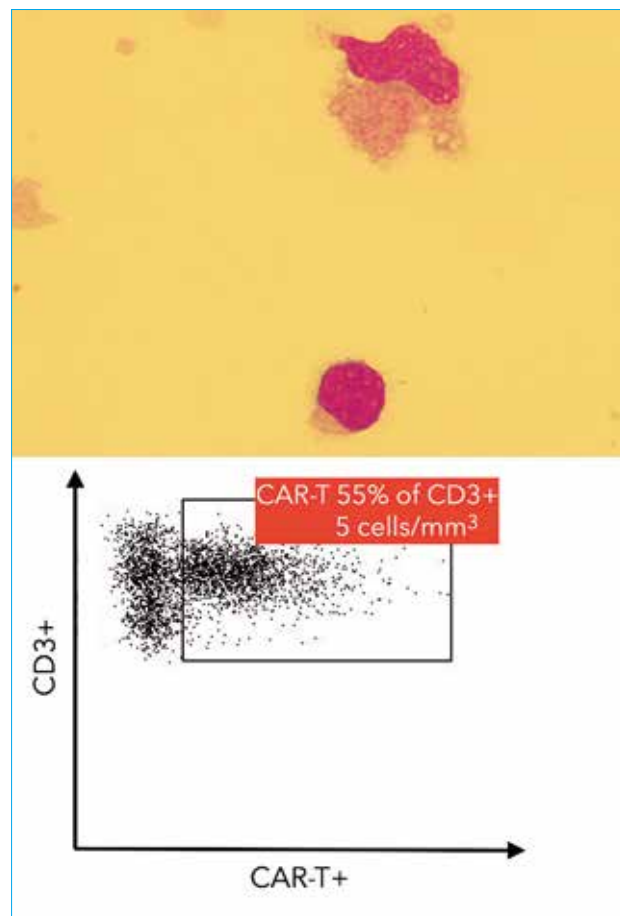


Рисунок 3

Цитологическое и иммунофенотипическое исследование ликвора на +14-е сутки от CAR-T-терапии

Figure 3

Cytological examination and immunophenotyping of CSF on Day +14 post CAR-T therapy



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В представленном клиническом случае после подтверждения изолированного ЦНС-рецидива после аллогенной ТГСК введение донорских CD45RA-деплетированных лимфоцитов в комбинации с интравентрикулярными введениями химиопрепаратов не принесло успеха, что подтверждает имеющиеся данные о низкой эффективности инфузий донорских лимфоцитов у пациентов с В-линейными злокачественными новообразованиями [9, 10]. Даже в случае успеха этого вида терапии пациенту потребовались бы дополнительные вмешательства для поддержания ремиссии, однако токсичность ранее полученного лечения в сочетании с ранними сроками после аллогенной ТГСК не позволили бы применить агрессивные методы терапии на данном этапе.

Пациент достиг полной ремиссии после однократного введения донорских CAR-T-лимфоцитов. Внутривенное введение CAR-T-лимфоцитов обеспечило их эффективное проникновение в церебро-

спинальную жидкость, значительную экспансию и длительную персистенцию, элиминацию опухолевых клеток и долгосрочное поддержание ремиссии. Способность CAR-T-лимфоцитов проникать через гематоэнцефалический барьер и достигать высоких пиков концентрации в ликворе, несмотря на отсутствие опухолевого субстрата в костном мозге и В-клеточную аплазию после ТГСК, является основой для возможного применения CAR-T-лимфоцитов в лечении ЦНС-рецидивов В-клеточных новообразований, в том числе изолированных. Ранее эта особенность была описана учеными из Китая на примере 3 взрослых пациентов с ЦНС-рецидивом В-линейного острого лимфобластного лейкоза, получивших внутривенное введение аутологичных CAR-T-лимфоцитов после предшествующей интратекальной терапии. Все пациенты достигли ремиссии с обратимой токсичностью [11]. Однако у 1 пациента с опухолевой нагрузкой в костном мозге развились судороги на фоне терапии, что является тяжелой CAR-T-ассоциированной нейротоксичностью. Логично предположить, что донорские CAR-T-лим-

фоциты могут вызвать схожие по тяжести и, вероятно, даже более выраженные побочные эффекты, нежели аутологичные. По данным других авторов, терапия CAR-T-клетками донорского происхождения также может быть связана с высоким риском развития тяжелого синдрома выброса цитокинов и тяжелой нейротоксичности [12]. В описанном нами клиническом случае токсичность была умеренной и обратимой, однако в связи с высокими рисками токсичности данный метод имеет ограничения в широком применении. Зачастую осложнения развиваются стремительно, могут быть серьезными, вплоть до жизнеугрожающих, и требуют экстренных вмешательств. В учреждениях, где планируется применение CAR-T-клеток, необходимо обеспечить наличие палат интенсивной терапии и достаточного технического оснащения, которое позволит оперативно провести необходимые лабораторно-инструментальные исследования. Персонал должен быть обучен распознавать нежелательные явления и осуществлять их менеджмент, а тоцилизумаб должен быть доступен для немедленного применения.

В представленном случае пациент не имел проявлений РТПХ как до, так и после проведения терапии донорскими CAR-T-лимфоцитами. Вероятно, это связано с типом донора, предшествующим конди-

онированием и иммуносупрессией. Однако баланс между эффектом «трансплантат против опухоли» и РТПХ по-прежнему является основной проблемой применения любых донорских Т-клеток и требует дальнейшего изучения для того, чтобы их использование могло стать максимально безопасным и эффективным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Терапия донорскими CD19-специфичными CAR-T-лимфоцитами обеспечивает стойкую ремиссию в случае изолированного ЦНС-рецидива В-лимфобластной лимфомы. Данный вид лечения может быть потенциально безопасным и эффективным при рецидивах В-линейного острого лимфобластного лейкоза/лимфомы после аллогенной ТГСК.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Shelikhova L.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0520-5630>

Maschan A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Maschan M.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

- Merli P., Algeri M., Del Bufalo F., Locatelli F. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Curr Hematol Malig Rep* 2019; 14 (2): 94–105. DOI: 10.1007/s11899-019-00502-2
- Giebel S., Boumendl A., Labopin M., Seesaghur A., Baron F., Ciceri F., et al. Trends in the use of hematopoietic stem cell transplantation for adults with acute lymphoblastic leukemia in Europe: a report from the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Ann Hematol* 2019; 98 (10): 2389–98. DOI: 10.1007/s00277-019-03771-2
- Yaniv I., Krauss A.C., Beohou E., Dalisier A., Corbacioglu S., Zecca M., et al. Second Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Post-Transplantation Relapsed Acute Leukemia in Children: A Retrospective EBMT-PDWP Study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24 (8): 1629–42. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.03.002
- Maude S.L., Laetsch T.W., Buechner J., Rives S., Boyer M., Bittencourt H., et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 2018; 378 (5): 439–48.
- Lee D.W., Kochenderfer J.N., Stetler-Stevenson M., Cui Y.K., Delbrook C., Feldman S.A., et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2015; 385 (9967): 517–28.
- Smith M., Zakrzewski J., James S., Sad-elain M. Posttransplant chimeric antigen receptor therapy. *Blood* 2018; 131 (10): 1045–52. DOI: 10.1182/blood-2017-08-752121
- Chen Y., Cheng Y., Suo P., Yan C., Wang Y., Chen Y., et al. Donor-derived CD19-targeted T cell infusion induces minimal residual disease-negative remission in relapsed B-cell acute lymphoblastic leukaemia with no response to donor lymphocyte infusions after haploidentical haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2017; 179 (4): 598–605. DOI: 10.1111/bjh.14923. Epub 2017 Oct 26. PMID: 29076142.
- Yang Y., Jacoby E., Fry T.J. Challenges and opportunities of allogeneic donor-derived CAR T cells. *Curr Opin Hematol* 2015; 22 (6): 509–15. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000181
- Deol A., Lum L.G. Role of donor lymphocyte infusions in relapsed hematological malignancies after stem cell transplantation revisited. *Cancer Treat Rev* 2010; 36 (7): 528–38. DOI: 10.1016/j.ctrv.2010.03.004
- Talleur A.C., Li Y., Akel S., Sharma A., Qudeimat A., Srinivasan A., et al. Haploidentical CD45RA-Negative Donor Lymphocyte Infusions Are Feasible, Safe and Associated with Clinical Benefit. *Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy*, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN; 2 Human Applications Lab, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN. DOI: 10.1016/j.bbmt.2019.12.435
- He X., Xiao X., Li Q., Jiang Y., Cao Y., Sun R., et al. Anti-CD19 CAR-T as a feasible and safe treatment against central nervous system leukemia after intrathecal chemotherapy in adults with relapsed or refractory B-ALL. *Leukemia* 2019; 33: 2102–4. DOI: 10.1038/s41375-019-0437-5
- Zhang C., Wang X.Q., Zhang R.L., Liu F., Wang Y., Yan Z.-L., et al. Donor-derived CD19 CAR-T cell therapy of relapse of CD19-positive B-ALL post allotransplant. *Leukemia* 2020. DOI: 10.1038/s41375-020-01056-6

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 23.03.2021
Принята к печати 12.04.2021

Контактная информация:
Блудова Виктория Олеговна,
врач-ординатор ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: vovodina_1996@list.ru

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 23.03.2021
Accepted 12.04.2021

Correspondence:
Viktorya O. Bludova,
a resident at the Dmitry Rogachev National
Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology and
Immunology, Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: vovodina_1996@list.ru

10.24287/1726-1708-2021-20-2-148-155

Длительный устойчивый смешанный химеризм у пациента с синдромом Вискотта–Олдрича после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

В.О. Блудова, А.Л. Лаберко, Ю.А. Родина, В.В. Бриллиантова, Е.В. Райкина,
А.Л. Хорева, Д.Е. Першин, Г.В. Терещенко, А.Ю. Щербина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

В статье представлено клиническое наблюдение пациента с синдромом Вискотта–Олдрича, у которого после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от гаплоидентичного донора определялась длительная персистенция смешанного химеризма. На основании анализа клинической картины пациента после ТГСК было показано, что для коррекции тромбоцитопении необходимо присутствие > 50% донорских клеток в миелоидной линии. Кроме того, наличие смешанного химеризма в В-лимфоцитах внесло свой вклад в развитие аутоиммунных осложнений у пациента, а также к стойкой гипогаммаглобулинемии, несмотря на восстановление нормального числа лимфоцитов всех популяций. Роль смешанного химеризма в патогенезе иммунных посттрансплантационных осложнений требует изучения на больших группах пациентов с первичными иммунодефицитами. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: синдром Вискотта–Олдрича, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, смешанный химеризм, иммунные осложнения

Блудова В.О. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 148–155. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-148-155

Long-term persistent mixed chimerism in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

V.O. Bludova, A.L. Laberko, Yu.A. Rodina, V.V. Brilliantova, E.V. Raykina, A.L. Khoreva, D.E. Pershin,
G.V. Tereshchenko, A.Yu. Shcherbina

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

The article describes a clinical case of a patient with Wiskott–Aldrich syndrome, in whom long-term persistence of mixed chimerism was determined after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) from a haploidentical donor. Based on the analysis of the patient's clinical picture after HSCT, it was shown that the presence of > 50% of donor cells in the myeloid lineage is necessary for the correction of thrombocytopenia. In addition, the presence of mixed chimerism in B-lymphocytes possibly contributed to the development of autoimmune complications in the patient, as well as to the persistent hypogammaglobulinemia, despite the restoration of the normal numbers of lymphocytes in all main sub-populations. The role of mixed chimerism in the pathogenesis of immune post-transplant complications requires study in large groups of patients with primary immunodeficiencies. The patient's parents agreed to use the information, including the child's photo, in scientific research and publications.

Key words: Wiskott–Aldrich syndrome, hematopoietic stem cell transplantation, mixed chimerism, immune complications

Bludova V.O., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 148–155.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-148-155

Синдром Вискотта–Олдрича (СВО) – это редкое тяжелое X-сцепленное заболевание, характеризующееся микротромбоцитопенией, экземой, комбинированным иммунодефицитом, высоким риском развития аутоиммунных осложнений и злокачественных новообразований [1, 2]. В основе патогенеза лежат мутации в гене WAS, который кодирует белок WAS (WASp) [3].

WASp экспрессируется в гемопоэтических клетках и опосредует перестройку актинового цитоскелета в ответ на активацию клетки [4, 5]. Дефицит

WASp приводит к снижению количества и функции Т-лимфоцитов и тромбоцитов, нарушению продукции антител, функции естественных киллеров, хемотаксиса и фагоцитоза [5, 6].

Согласно литературным данным, СВО обладает варибельным клиническим фенотипом, который не полностью коррелирует с типом и локализацией мутации в гене WAS [7]. В соответствии с разработанной Zhu и соавт. шкалой тяжести заболевания, тяжесть СВО оценивается на основе выраженности тромбоцитопении, экземы, инфекций и по наличию

аутоиммунных осложнений или злокачественного новообразования [4].

На сегодняшний день диагноз СВО устанавливается на основании молекулярно-генетического исследования путем обнаружения мутации в гене WAS. Дополнительно в качестве скринингового метода, а также в целях подтверждения патогенности мутации применяется оценка внутриклеточной экспрессии WASp с помощью проточной цитофлуориметрии [8–10].

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) – это основной подход в лечении пациентов с СВО в целях коррекции иммунодефицита и тромбоцитопении. Первая успешная ТГСК при СВО была выполнена в 1968 г. [11]. В настоящее время по мере развития современной трансплантологии и усовершенствования процедуры трансплантации общая выживаемость у пациентов с СВО после ТГСК составляет 90% и более [12–14]. Однако, несмотря на хорошие показатели выживаемости после ТГСК, у ряда пациентов с СВО данный метод лечения по-прежнему ассоциирован с рисками развития осложнений в посттрансплантационном периоде. Одной из серьезных проблем является наличие у пациентов смешанного химеризма и ассоциированных с ним дисфункций гемопоэза и тяжелых аутоиммунных осложнений [14–16].

Обеспечение адекватного и стабильного приживания донорских гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) необходимо для эффективного подавления проявлений основного заболевания. Оценка генетического происхождения гемопоэза (клеточный химеризм) в настоящее время является неотъемлемой частью посттрансплантационного мониторинга пациентов [17]. «Золотым стандартом» количественного определения химеризма является анализ коротких tandemных повторов (Short Tandem Repeats, STR) методом полимеразной цепной реакции, который количественно определяет ДНК клеток донора и реципиента с использованием индивидуальных специфических повторов [18]. При этом при большинстве заболеваний, включая первичные иммунодефицитные состояния (ПИДС), нередко проводится оценка не только общего химеризма клеток периферической крови или костного мозга, но и анализ отдельных клеточных линий: миелоидных клеток (CD14, CD15, CD33), Т (CD3)- и В (CD19)-лимфоцитов. Дополнительно может быть использована оценка химеризма в эритроидных (CD71) и NK (CD16/CD56)-клетках.

Возможные факторы, связанные с развитием смешанного химеризма, включают в себя источник ГСК, интенсивность режима кондиционирования, состав и метод обработки трансплантата [19, 20]. В связи уменьшением токсического

повреждения режимы сниженной интенсивности все больше находят применение в трансплантации при ПИДС, однако могут привести к длительной персистенции смешанного химеризма. Считается, что для коррекции проявлений основного заболевания при некоторых ПИДС достаточно неполного донорского химеризма [21]. На сегодняшний день доступно несколько исследований о предпочтительных уровнях химеризма при некоторых ПИДС, достаточных для контроля основного заболевания [22–24].

Впервые об аутоиммунных осложнениях у пациентов с СВО после ТГСК, связанных со смешанным химеризмом, сообщили в 2009 г. Ozsahin и соавт. [15]. Для контроля аутоиммунных проявлений требовалось назначение массивной иммуносупрессивной терапии, которая, в свою очередь, привела к значительным инфекционным осложнениям. Это открытие стало ключевым в понимании роли донорского химеризма у пациентов с СВО, поскольку аутоиммунные осложнения, не связанные с течением реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), являются редким осложнением ТГСК [25].

В крупном мультицентровом исследовании Moratto и соавт. показано, что низкий уровень донорского химеризма в Т-, В- и миелоидных клетках у пациентов с СВО был связан с повышенным риском аутоиммунных осложнений [16]. При этом более низкие уровни донорского химеризма чаще наблюдались в миелоидных клетках, чем в лимфоидных. В частности, более высокие значения донорского химеризма определялись в Т-лимфоцитах. Эти наблюдения согласуются с представлением о том, что восстановление аутологичных стволовых клеток в костном мозге не обязательно влияет на развитие Т-клеток в тимусе, если этот орган заселен донорскими лимфоидными клетками-предшественниками. Кроме того, в данном исследовании было показано, что у пациентов с низкими значениями донорских клеток миелоидной линии часто не удавалось достичь нормализации количества В-лимфоцитов. В дополнение стойкая тромбоцитопения после ТГСК была тесно связана с низким или нулевым миелоидным химеризмом. Авторы постулировали, что нормализация тромбопоэза у таких пациентов может быть достигнута при миелоидном химеризме > 50% донорских клеток.

Ввиду этого динамическая оценка химеризма крайне важна при оценке причин клинических проблем пациентов.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Рисунок 1

Динамика химеризма у пациента с СВО после ТГСК

Figure 1

The kinetics of chimerism in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome (WAS) after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT)

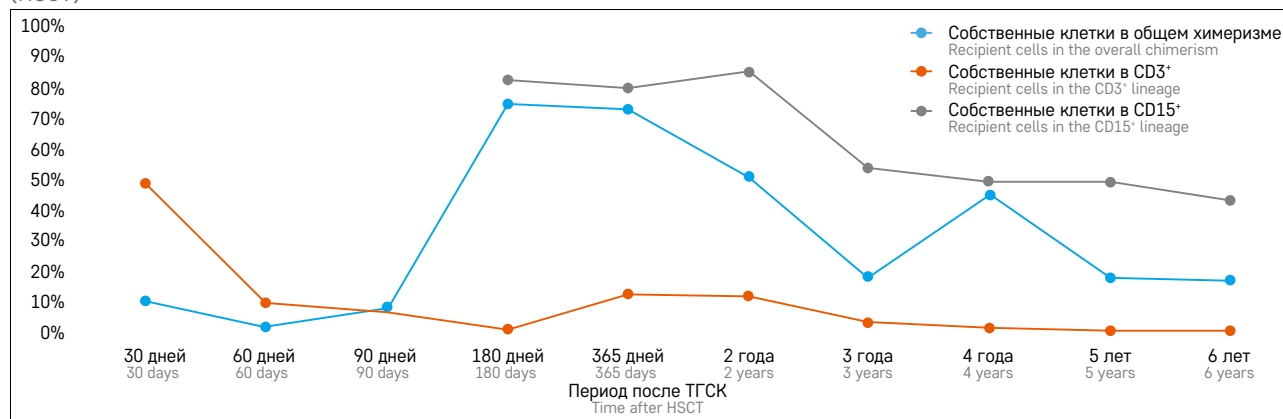
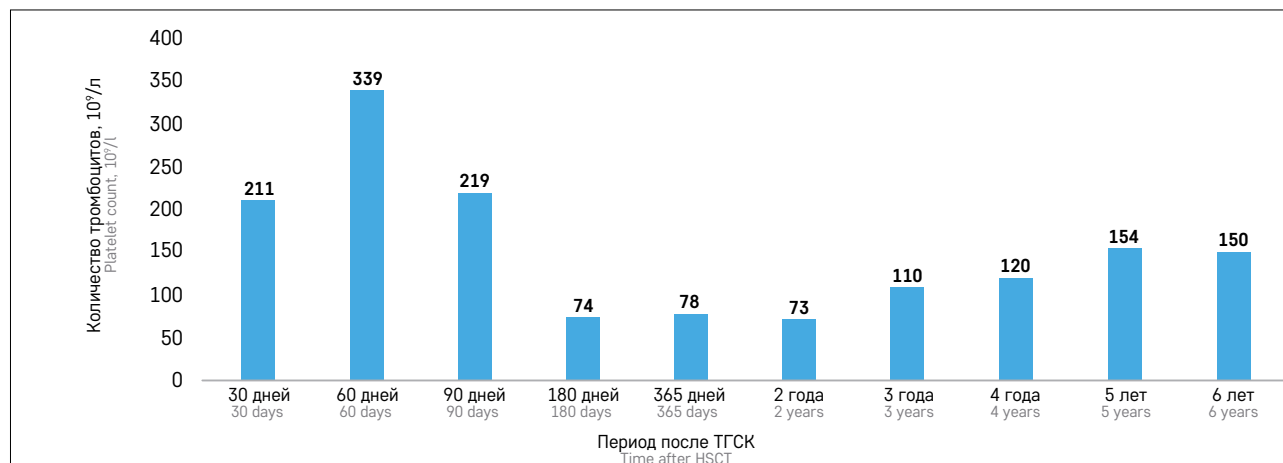


Рисунок 2

Динамика уровня тромбоцитов общего химеризма и в линии CD15⁺ у пациента с СВО после ТГСК

Figure 2

Changes in platelet count of the overall chimerism and the CD15⁺ lineage chimerism observed over time in the patient with WAS after HSCT

Общий, %	11	3	9	75	73	51	19	45	19	18
Overall chimerism, %										
CD15 ⁺ , %	-	-	-	83	80	86	54	50	50	44

Ребенок 2013 г.р. был обследован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. На основании клинических данных (тромбоцитопения, геморрагический синдром, рецидивирующие инфекции), а также выявления сниженной экспрессии WASp по данным проточной цитометрии и мутации гена WAS (с.397G>A, p.Glu133Lys) пациенту был подтвержден диагноз: первичный иммунодефицит: СВО. В связи с классическим фенотипом СВО пациенту были определены показания к куративной терапии – аллогенной ТГСК, которая была проведена в возрасте 16 месяцев от гаплоидентичного родственного донора (мать) с процессингом трансплантата TCRαβ/CD19-деплецией с использованием иммуномагнитной технологии (Miltenyi Biotec). В качестве кондиционирования были использованы: тресульфат 42 г/м², флударабин 150 мг/м², ритуксимаб 365 мг/м², тимоглобулин 7,5 мг/кг. Для профилактики РТПХ использовали

такролимус с -1-го по +30-й день. Приживление лейкоцитарного ростка трансплантата было зафиксировано на +17-е сутки, тромбоцитарного ростка – на +13-е сутки.

Ранний посттрансплантационный период осложнился реактивацией цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции с развитием ЦМВ-ретинита, а также определялась персистенция смешанного химеризма: на +30-й день по CD3⁺ – 49,3%, общий химеризм – 10,7% клеток собственного происхождения; на +90-й день по CD3⁺ – 7,7%, общий химеризм – 8,7% клеток собственного происхождения. Динамика общего и линейного (CD3⁺, CD15⁺) химеризма представлена на рисунке 1.

Через 6 мес после ТГСК у ребенка был выявлен значительный сдвиг химеризма в сторону собственного. При исследовании общего химеризма определялось 75,3% собственных клеток, в линейном

химеризме: CD3⁺ – 1,7% собственных клеток, CD14⁺ – 85% собственных клеток, CD15⁺ – 83% собственных клеток, CD19⁺ – 76,3% собственных клеток. При этом отмечалось снижение количества тромбоцитов до $70 \times 10^9/\text{л}$ минимально. Динамика изменения количества тромбоцитов продемонстрирована на *рисунке 2*. Таким образом, имела место тяжелая дисфункция трансплантата на фоне так называемого расщепленного химеризма (преимущественно реципиентские клетки в миелоидной и преимущественно донорские в Т-клеточной линиях)

Следует отметить, что, несмотря на смешанный химеризм, темпы иммунореаконституции соответствовали срокам после ТГСК с TCR $\alpha\beta^+$ /CD19⁺-деплецией у пациентов с ПИДС [26].

Динамика восстановления количества лимфоцитов представлена в *таблице*.

При контрольном обследовании через 1 год после ТГСК сохранялась аналогичная клинико-лабораторная картина. Данная клиническая ситуация была расценена как показание к проведению повторной ТГСК, однако от родителей ребенка был получен отказ.

В последующем при обследовании пациента через 2 года после ТГСК отмечалась положительная динамика по данным исследования химеризма: в общем, CD15⁺- и CD19⁺-линиях выявлено снижение процента собственных клеток, а также зарегистрировано восстановление функционирования тромбоцитарного ростка гемопоэза (уровень тромбоцитов выше $100 \times 10^9/\text{л}$). Несмотря на восстановление субпопуляционного состава лимфоцитов, сохранялась гипогаммаглобулинемия, что требовало проведения заместительной терапии внутривенным

иммуноглобулином, это, вероятно, было обусловлено отсутствием кооперации между Т- и В-лимфоцитами на фоне смешанного химеризма в В-клеточной линии. При этом тяжелых инфекционных эпизодов у пациента отмечено не было.

В 2018 г. (4 года после ТГСК) после травмы правого колена у ребенка появились признаки артрита в виде деформации сустава, болевого синдрома. По результатам магнитно-резонансной томографии (МРТ) правого коленного сустава определялись повышенное количество жидкости с наличием на ее фоне неоднородных гипоинтенсивных наложений (утолщение синовиальной оболочки) и отечность внутрисуставной клетчатки Гоффа (*рисунк 3*).

Произведена пункция коленного сустава с интраартикулярным введением глюкокортикостероидов. По результатам исследования внутрисуставной жидкости

Рисунок 3

МРТ-картина артрита правого коленного сустава. Повышенное количество жидкости в супрапателлярном и верхнебоковых коленных заворотах с наличием на ее фоне неоднородных гипоинтенсивных наложений (утолщение синовиальной оболочки)

Figure 3

An MRI scan showing arthritis in the right knee. An increased amount of fluid in the suprapatellar and superolateral recesses of the knee with heterogeneous hypointense areas (synovial thickening)



Таблица

Динамика количества лимфоцитов у пациента с СВО после ТГСК

Table

Changes in lymphocyte count observed over time in the patient with WAS after HSCT

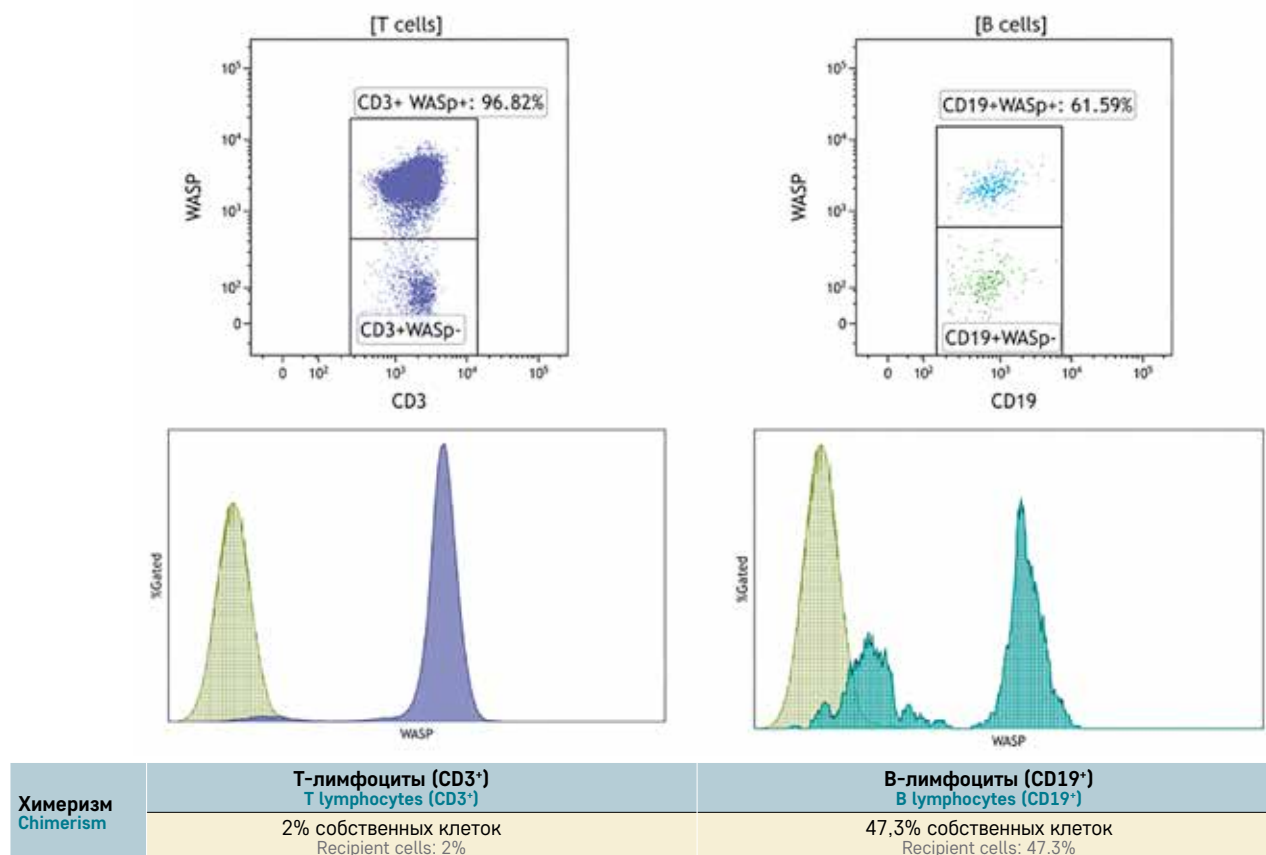
Период после ТГСК Time after HSCT	CD3 ⁺ CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD4 ⁺ , 10 ⁹ /l	CD3 ⁺ CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD8 ⁺ , 10 ⁹ /l	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , 10 ⁹ /l	CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л CD19 ⁺ , 10 ⁹ /l
60 дней 60 days	0,019	0,186	0,269	0
90 дней 90 days	0,089	0,177	0,235	0
180 дней 180 days	0,05	0,263	0,131	0
365 дней 365 days	0,285	0,796	0,172	0,135
2 года 2 years	0,67	2,4	0,151	0,224
3 года 3 years	0,57	1,27	0,08	0,172
4 года 4 years	0,72	2,6	0,162	0,178
5 лет 5 years	0,489	1,8	0,236	0,147
6 лет 6 years	0,5	1,43	0,12	0,21

Рисунок 4

Определение уровня экспрессии WASp в Т- и В-лимфоцитах методом проточной цитометрии

Figure 4

The determination of WASp expression levels in T and B lymphocytes using flow cytometry



методом полимеразной цепной реакции выявлена *Mycoplasma hominis*, в связи с чем был проведен курс антибактериальной терапии. На фоне лечения удалось купировать проявления артрита, однако эффект был кратковременным. При этом в периферической крови сохранялся стойкий расщепленный химеризм – около 50% клеток в миелоидной и В-клеточной линиях имели собственное происхождение, Т-клеточный химеризм – донорский. При определении уровня экспрессии WASp была выявлена корреляция с молекулярным химеризмом (рисунок 4).

С учетом результатов химеризма развитие артрита было расценено нами как проявление аутоиммунитета на фоне смешанного химеризма и присутствия клона В-лимфоцитов реципиента. В связи с недостаточной эффективностью антибактериальной терапии и глюкокортикостероидов, сохраняющимся суставным синдромом в течение 6 мес, вероятным аутоиммунным генезом артрита на фоне расщепленного химеризма пациенту была инициирована противовоспалительная терапия ингибитором фактора некроза опухоли- α – этанерцептом.

На момент последнего наблюдения в 2020 г. (6 лет после ТГСК) на фоне смешанного химеризма функция трансплантата оставалась сохранной по

миелоидному росту, определялся нормальный уровень тромбоцитов, однако сохранялись нарушение синтеза иммуноглобулинов и проявления артрита. В связи с сохраняющейся гипогаммаглобулинемией пациенту было рекомендовано продолжить заместительную терапию внутривенным иммуноглобулином, а также противовоспалительную терапию этанерцептом в связи с течением артрита.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Аллогенная ТГСК является эффективным методом лечения СВО и предотвращает развитие у пациентов жизнеугрожающих осложнений [12–14]. Принимая во внимание, что большинство применяемых современных режимов кондиционирования при ПИДС являются режимами сниженной интенсивности, ожидаемым осложнением ТГСК у некоторых пациентов является недостаточность трансплантата: первичное неприживание или отторжение, дисфункция, смешанный химеризм [27, 28].

Известно, что для коррекции основного заболевания при ПИДС не всегда необходим полный донорский химеризм и пороговый процент донорских клеток для коррекции основных симптомов доста-

точно варьирующ [22–24]. Долгосрочное наблюдение за пациентами с СВО после ТГСК позволило сделать фундаментальные открытия в области исследования смешанного химеризма у больных и его роли в развитии осложнений [14–16]. Так же, как и в исследованиях Moratto и соавт. и Burroughs и соавт., на основании анализа клинической картины пациента со смешанным химеризмом мы наблюдали, что для оптимального функционирования тромбоцитарного ростка трансплантата необходим стабильный уровень миелоидного химеризма (> 50% донорских клеток) [14, 16].

Аутоиммунные осложнения у пациентов с СВО до ТГСК развиваются примерно в 30% случаев, включают аутоиммунную цитопению, артрит, васкулит, нефрит и др. и характеризуются, как правило, тяжелым, подчас жизнеугрожающим течением [29, 30]. В исследовании Becker-Hegman и соавт. было продемонстрировано, что в основе патогенеза аутоиммунных осложнений у пациентов с СВО лежит нарушение функционирования В-клеток, которые проявляют гиперреактивность на сигналы от В-клеточного рецептора и Toll-подобных рецепторов, что приводит к гиперпродукции аутоантител [31].

Известно, что у пациентов с СВО после ТГСК могут также развиваться не ассоциированные с РТПХ аутоиммунные осложнения. Они, как правило, тесно связаны со смешанным химеризмом и этот факт предполагает, что остаточные В-лимфоциты реципиента могут опосредовать развитие аутоиммунных заболеваний, несмотря на присутствие нормальных донорских клеток. Поскольку В-лимфоциты, как и миелоидные клетки, дифференцируются на территории костного мозга, значения В-клеточного химеризма часто коррелируют с миелоидным, что и было показано в нашем клиническом наблюдении. Мы полагаем, что аутоиммунные осложнения связаны с расщепленным химеризмом в В-клеточной линии, а не в миелоидной популяции в целом.

Дополнительным методом анализа функциональности иммунной системы после ТГСК может стать оценка экспрессии WASp. В описанном клиническом случае мы наблюдали, что доля клеток, не экспрессирующих WASp, соответствует доле клеток собственного происхождения, так же, как и в исследовании Д.Е. Першина и соавт. [10].

Аллогенная ТГСК является единственным широкодоступным куративным методом лечения СВО, однако для коррекции основных жизнеугрожающих осложнений заболевания и сохранения качества жизни необходимо стабильное приживание донорских ГСК. За счет неполного восстановления иммунной функции на фоне расщепленного химеризма у описанного нами пациента развились

осложнения, для контроля которых, возможно, потребуются проведение пожизненной лекарственной терапии.

Важно отметить, что возможной причиной развития смешанного химеризма у описанного нами пациента могло быть применение режима кондиционирования со сниженной интенсивностью, что соответствует ранее опубликованным данным [12]. В то же время не исключено влияние процедуры процессинга трансплантата – TCR $\alpha\beta$ /CD19-деплеции, которая повышает риски его недостаточности за счет запуска эффекта «хозяин против трансплантата» Т-клетками реципиента [32].

Дальнейшее исследование исходов ТГСК, а также стабильности химеризма и иммунореаконституции позволит определить достаточный уровень донорских клеток для коррекции основного заболевания, а также оптимального подхода к ТГСК при СВО и других ПИДС.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Bludova V.O. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0960-3089>

Laberko A.L. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2354-2588>

Rodina Yu.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9857-4456>

Brilliantova V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0079-7761>

Raykina E.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

Khoreva A.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8697-4206>

Pershin D.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-7209>

Shcherbina A.Yu. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3113-4939>

МНЕНИЕ ЭКСПЕРТА

Д.Н. Балашов, д-р мед. наук, заведующий отделением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток №2 НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России

ТГСК является динамично развивающимся направлением в современной медицине. Еще не так давно усилия специалистов были сконцентрированы исключительно вокруг необходимости излечения пациента от основного заболевания. В настоящее время круг вопросов, которые ставятся специалистами, стал значительно шире. Среди них особое внимание уделяется обеспечению безопасности трансплантации и сохранению качества жизни пациента в отдаленном посттрансплантационном периоде. Именно это и стало основной причиной использования для кондиционирования альтернативных химиотерапевтических препаратов, обладающих низким профилем токсичности. В настоящее

время при целом ряде нозологических форм данный подход оказался абсолютно оправданным. К сожалению, персистенция смешанного химеризма, обусловленная в том числе кондиционированием с редуцированной интенсивностью, может ставить под сомнение успех проведенной ТГСК, учитывая риски сохранения у пациента серьезных проблем, характерных для основного заболевания. Любопытно, что применительно к пациенту с диагнозом СВО развитие смешанного химеризма с сопутствующими клиническими проблемами после трансплантации довольно часто имеет место даже при миелоаблативных режимах кондиционирования, что, вероятно, связано с биологическими особенностями заболевания. В частности, по данным Ochs и соавт. [7] частота отторжений после ТГСК у пациентов с СВО составляет 10%. Ситуация с сохранением реципиентского клеточного пула и постепенным вытеснением аллогенного трансплантата у пациента с СВО не является уникальной. Именно поэтому появление тромбоцитопении на фоне преимущественно реципиентского смешанного химеризма в представленном клиническом случае могло стать аргументом для обсуждения необходимости повторной ТГСК. Тем не менее трансплантация не была выполнена, а смешанный химеризм впоследствии не только не был реализован в отторжение, но и позволил сохранить ряд функциональных характеристик трансплантата, что, вероятно, связано

с развитием иммунологической толерантности, приведшей к совместному функционированию двух аллогенных по отношению друг к другу клеточных популяций. В настоящее время у пациента имеются две основные посттрансплантационные проблемы, а именно аутоиммунный артрит и гипогаммаглобулинемия. Это, согласно информации о доминировании реципиентских CD19⁺-клеток, по данным линейного химеризма в сочетании с низкой экспрессией WASp, подтверждает природу их возникновения.

Конечной целью любой ТГСК является стойкий полный донорский химеризм при отсутствии отдаленных последствий проведенной терапии. Смешанный химеризм, в свою очередь, не может однозначно свидетельствовать в пользу неуспеха трансплантации. Для прогноза развития связанных с заболеванием осложнений в данной ситуации действительно может понадобиться комплекс дополнительных обследований, направленных на определение функции отдельных клеточных субпопуляций, что продемонстрировано авторами публикации.

Представленный клинический случай является демонстрацией сложности и неоднозначности проблемы смешанного химеризма после ТГСК, что, безусловно, требует дальнейшего анализа в группах для ответа на поставленные авторами вопросы об оценке результатов проведенного лечения и прогнозах заболевания.

Литература

- Ochs H.D., Rosen F.S. The Wiskott-Aldrich syndrome. In: Ochs H.D., Smith C.I.E., Puck J.M., eds. *Primary Immune Deficiency Diseases: A Molecular and Genetic Approach*. New York, NY: Oxford University Press; 2007. Pp. 454–469.
- Buchbinder D., Nugent D.J., Fillipovich A.H. Wiskott-Aldrich syndrome: diagnosis, current management, and emerging treatments. *Appl Clin Genet* 2014; 7: 55–66.
- Derry J.M., Ochs H.D., Francke U. Isolation of a novel gene mutated in Wiskott-Aldrich syndrome. *Cell* 1994; 78: 635–44.
- Zhu Q., Zhang M., Blaese R.M., Derry J.M., Junker A., Francke U., et al. The Wiskott-Aldrich Syndrome and X Linked Congenital Thrombocytopenia are caused by mutations in the same gene. *Blood* 1995; 86 (10): 3797–804.
- Blundell M.P., Worth A., Bouma G., Thrasher A.J. The Wiskott-Aldrich syndrome: The actin cytoskeleton and immune cell function. *Disease Markers* 2010; 29 (3–4): 157–75.
- Bouma G., Burns S.O., Thrasher A.J. Wiskott-Aldrich syndrome: immunodeficiency resulting from defective cell migration and impaired immunostimulatory activation. *Immunobiology* 2009; 214 (9): 778–90.
- Ochs H.D., Filipovich A.H., Veys P., Cowan M.J., Kapoor N. Wiskott-Aldrich syndrome: diagnosis, clinical and laboratory manifestations, and treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15 (1): 84–90.
- Chiang S.C.C., Vergamini S.M., Husami A., Neumeier L., Quinn K., Ellerhorst T., et al. Screening for Wiskott-Aldrich syndrome by flow cytometry. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 142 (1): 333–5.
- Nakajima M., Yamada M., Yamaguchi K., Sakiyama Y., Oda A., Nelson D.L., et al. Possible application of flow cytometry for evaluation of the structure and functional status of WASP in peripheral blood mononuclear cells; *European J Haematol* 2009; 82 (3): 223–30.
- Першин Д.Е., Лодоева О.Б., Фадеева М.С., Мерсиянова И.В., Хорева А.Л., Владимиров И.С. и др. Разработка метода диагностики синдрома Вискотта-Олдрича путем оценки экспрессии белка WASP с использованием проточной цитофлуориметрии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2020; 19 (2): 141–51.
- Bach F.H., Albertini R.J., Joo P., Anderson J.L., Bortin M.M. Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet* 1968; 292 (7583): 1364–6.
- Balashov D., Laberko A., Shcherbina A., Trakhtman P., Abramov D., Gutovskaya E., et al. Conditioning Regimen with Plerixafor Is Safe and Improves the Outcome of TCRab⁺ and CD19⁺ Cell-Depleted Stem Cell Transplantation in

- Patients with Wiskott–Aldrich Syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24 (7): 1432–40.
13. Elfeky R.A., Furtado-Silva J.M., Chiesa R. One hundred percent survival after transplantation of 34 patients with Wiskott–Aldrich syndrome over 20 years. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 142: 1654–6.
 14. Burroughs L., Petrovic A., Brazauskas R., Liu X., Griffith L.M., Ochs H.D., et al. Excellent outcomes following hematopoietic cell transplantation for Wiskott–Aldrich syndrome: a PIDTC report. *Blood* 2020; 135: 2094–105.
 15. Ozsahin H., Cavazzana-Calvo M., Notarangelo L.D., Schulz A., Thrasher A.J., Mazzolari E., et al. Long-term outcome following hematopoietic stem-cell transplantation in Wiskott–Aldrich syndrome: collaborative study of the European Society for Immunodeficiencies and European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2008; 111 (1): 439–45.
 16. Moratto D., Giliani S., Bonfim C., Mazzolari E., Fischer A., Ochs H.D., et al. Long-term outcome and lineage-specific chimerism in 194 patients with Wiskott–Aldrich syndrome treated by hematopoietic cell transplantation in the period 1980–2009: an international collaborative study. *Blood* 2011; 118: 1675–84.
 17. Zimmerman C., Shenoy S. Chimerism in the Realm of Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Non-malignant Disorders – A Perspective. *Front Immunol* 2020; 11: 1791. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01791
 18. Navarro-Bailón A., Carbonell D., Escudero A., Chicano M., Muñoz P., Suárez-González J., et al. Short Tandem Repeats (STRs) as Biomarkers for the Quantitative Follow-Up of Chimerism after Stem Cell Transplantation: Methodological Considerations and Clinical Application. *Genes (Basel)* 2020; 11 (9): 993.
 19. Baron F., Little M.T., Storb R. Kinetics of engraftment following allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced intensity or nonmyeloablative conditioning. *Blood Rev* 2005; 19: 153–64.
 20. Sugita J., Tanaka J., Hashimoto A., Shiratori S., Yasumoto A., Wakasa K., et al. Influence of conditioning regimens and stem cell sources on donor-type chimerism early after stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2008; 87: 1003–8.
 21. Bader P., Niethammer D., Willasch A., Kreyenberg H., Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? *Bone Marrow Transplant* 2005; 35 (2): 107–19.
 22. Hartz B., Marsh R., Rao K., Henter J.-I., Jordan M., Filipovich L., et al. The minimum required level of donor chimerism in hereditary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2016; 127 (25): 3281–90.
 23. Morillo-Gutierrez B., Beier R., Rao K., Burroughs L., Schulz A., Ewins A.-M., et al. Treosulfan-based conditioning for allogeneic HSCT in children with chronic granulomatous disease: a multi-center experience. *Blood* 2016; 128 (3): 440–8.
 24. Abd Hamid I.J., Slatter M.A., McKendrick F., Pearce M.S., Gennery A.R. Long-term outcome of hematopoietic stem cell transplantation for IL2RG/JAK3 SCID: a cohort report. *Blood* 2017; 129 (15): 2198–201.
 25. Lum S.H., Elfeky R., Achini F.R., Margarit-Soler A., Cinicola B., Perez-Heras I., et al. Outcome of Non-hematological Autoimmunity After Hematopoietic Cell Transplantation in Children with Primary Immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2021; 41: 171–84.
 26. Laberko A., Sultanova E., Gutovskaya E., Shipitsina I., Shelikhova L., Kurnikova E., et al. Mismatched related versus matched unrelated donors in TCRalpha-beta/CD19-depleted HSCT for primary immunodeficiencies. *Blood* 2019; 134 (20): 1755–63.
 27. Rao K., Adams S., Qasim W., Allwood Z., Worth A., Silva J., et al. Effect of stem cell source on long-term chimerism and event-free survival in children with primary immunodeficiency disorders after fludarabine and melphalan conditioning regimen. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 138: 1152–60.
 28. Marsh R.A., Rao M.B., Gefen A., Bellman D., Mehta P.A., Khandelwal P., et al. Experience with alemtuzumab, fludarabine, and melphalan reduced-intensity conditioning hematopoietic cell transplantation in patients with nonmalignant diseases reveals good outcomes and that the risk of mixed chimerism depends on underlying disease, stem cell source, and alemtuzumab regimen. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21: 1460–70. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.04.009
 29. Sullivan K.E., Mullen C.A., Blaese R.M., Winkelstein J.A. A multiinstitutional survey of the Wiskott–Aldrich syndrome. *J Pediatr* 1994; 125: 876–85. DOI: 10.1016/S0022-3476(05)82002-5
 30. Catucci M., Castiello M.C., Pala F., Bosticardo M., Villa A. Autoimmunity in Wiskott–Aldrich syndrome: an unsolved enigma. *Front Immunol* 2012; 3: 209.
 31. Becker-Herman S., Meyer-Bahlburg A., Schwartz M.A., Jackson S.W., Hudkins K.L., Liu C., et al. WASp-deficient B cells play a critical, cell-intrinsic role in triggering autoimmunity. *J Exp Med* 2011; 208: 2033–42.
 32. Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., Trakhtman P., Skvortsova Y., Shelikhova L., et al. Single-center experience of unrelated and haploidentical stem cell transplantation with TCRalpha-beta and CD19 depletion in children with primary immunodeficiency syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (11): 1955–62.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 03.11.2020
Принята к печати 02.02.2021

Контактная информация:
Хачатрян Лили Альбертовна,
канд. мед. наук, заведующая
боксированным отделением гематологии/
онкологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: lili.2510@yandex.ru

10.24287/1726-1708-2021-20-2-156-167

Современная терапия инфантильных гемангиом

Л.А. Хачатрян, Д.М. Николаева

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Инфантильная гемангиома (ИГ) – это самая частая доброкачественная сосудистая опухоль детей первого года жизни, в основе которой лежит аномальная пролиферация эндотелиальных клеток под действием основных проангиогенных факторов: фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактора роста фибробластов (FGF). Она развивается в первые недели после рождения, формируясь на протяжении 3–9 мес с регрессом в последующие 3–7 лет. Три четверти ИГ имеют нодулярную форму и не сопровождаются мальформациями, в то время как сегментарные ИГ чаще всего ассоциированы с синдромальными формами. Несмотря на спонтанный регресс (в 90% случаев), некоторые формы и локализации ИГ могут приводить к развитию осложнений как локальных, так и ставящих под угрозу витальные функции. В подавляющем большинстве случаев диагноз основывается на данных анамнеза, характерных признаках опухоли и клинического течения. Дополнительные исследования (ультразвуковая доплерография, магнитно-резонансная томография/компьютерная томография, биопсия) необходимы при осложненных формах и в сомнительных клинических случаях.

Ключевые слова: инфантильная гемангиома, ангиогенез, сегментарная гемангиома, гемангиоматоз

Хачатрян Л.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (2): 156–167. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-156-167

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 03.11.2020
Accepted 02.02.2021

Modern treatment of infantile hemangioma

L.A. Khachatryan, D.M. Nikolaeva

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:
Lili A. Khachatryan,
cand. med. sci., Head of Box Department
of Hematology/Oncology, Dmitry Rogachev
National Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology, Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: lili.2510@yandex.ru

Infantile hemangioma (IH) is the most common benign vascular tumor in children of the first year, which is based on abnormal proliferation of endothelial cells under the influence of the main pro-angiogenic factors: vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factors (FGF). It develops in the first weeks after birth, forming over 3–9 months with regression in the next 3–7 years. Three-quarters of infantile hemangiomas are nodular and are not accompanied by malformations. At the same time, segmental IH is most often associated with syndromic forms. Despite spontaneous regression (in 90% of cases), some forms and localization of IH can lead to the development of complications, local and endangering vital functions. In most cases, the diagnosis is based on anamnesis, characteristic features of the tumor, and clinical course. Additional studies (ultrasound DG, MRI/CT, biopsy) are necessary in complicated forms and in doubtful clinical cases.

Key words: infantile hemangioma, angiogenesis, segmental hemangioma, hemangiomatosis

Khachatryan L.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (2): 156–167.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-156-167

Инфантильная гемангиома (ИГ) – доброкачественная опухоль, в основе которой лежит аномальная пролиферация эндотелиальных клеток с нарушением архитектоники кровеносных сосудов [1]. Это самая частая из всех форм сосудистых аномалий, частота встречаемости составляет 5–10% [2] у детей первого года жизни. ИГ проходит 3 фазы развития: роста, стабилизации и регресса.

Для поверхностных форм ИГ фаза роста (пролиферации) длится обычно 6–8 мес, для подкожных и смешанных она может увеличиться до 9–12 мес [3]. Обычно ИГ, которая в 70% случаев при рождении отсутствует, в период фазы роста удваивает свои размеры, в 5% случаев – утраивает [3] и лишь изредка принимает гигантские размеры,

удлиняя пролиферативную фазу до 24 мес [4]. Фаза стабилизации длится от 12 до 36 мес и знаменуется началом регресса, длительность которого также во многом определяется размерами и формой опухоли: подкожные ИГ регрессируют медленнее. Средний возраст завершения фазы инволюции – 3,5 года [5].

Безусловно, большая часть ИГ (80–90%) проходят самостоятельно в среднем в течение 6–7 лет, не сопровождаясь какими-либо осложнениями. Однако в 10–20% случаев некоторые формы и локализации ИГ могут приводить не только к локальным осложнениям и косметическим дефектам, требующим коррекционного лечения (пластическая хирургия, лазерная терапия), но и быть причиной серьезных осложнений с нарушением витальных

функций (сдавление верхних дыхательных путей, сердечная недостаточность) [5, 6].

Для предотвращения этих осложнений необходимо немедленное начало терапии в целях достижения максимально быстрого сокращения объема образования. В *таблице 1* представлены формы/виды ИГ, которые требуют лечения.

Таблица 1
Основные осложнения, которые встречаются при ИГ

Риск витальных осложнений <i>The risk of vital complications</i>	
• ИГ подглоточного пространства IH of the sub-pharyngeal space	
• Гигантские ИГ, гемангиомы печени Giant IH, liver hemangiomas	
• ИГ желудочно-кишечного тракта IH of the gastrointestinal tract	
Риск функциональных расстройств <i>The risk of functional disorders</i>	
• ИГ окулярная/пальпебральная IH ocular/palpebral	
• ИГ слухового прохода IH of the ear canal	
• ИГ лабиальная IH labial	
• ИГ назальная IH nasal	
• ИГ промежности IH of the perineum	
ИГ, осложненные развитием некроза/вторичного инфицирования/болевым синдромом <i>IH complicated by the development of necrosis/secondary infection/pain syndrome</i>	
ИГ с риском развития эстетических осложнений <i>IH with the risk of aesthetic complications</i>	
• ИГ больших размеров с локализацией на лице Large IH with localization on the face	
• ИГ промежности IH of the perineum	
• ИГ носа, губ, век IH of the nose, lip, and eyelid	
• ИГ подкожная молочной железы Subcutaneous IH of the breast	

Инфантильные гемангиомы, сопровождающиеся риском развития витальных осложнений

• *Респираторный дистресс-синдром* – при локализации в подглоточном пространстве. Чаще всего (в 1/3 случаев) такая локализация может отмечаться при наличии ИГ в области сегмента S3 (*рисунк 1*) [7, 8].

• *Сердечная недостаточность (СН)* – связана с увеличением венозного возврата и соответственно преднагрузки на правые отделы сердца. Это осложнение может наблюдаться при гигантских формах и вовлечении в патологический процесс печени (мультифокальные и диффузные формы поражения) [10]. Последние могут сопровождаться не только СН, но и абдоминальным компартмент-синдромом, который чаще встречается при диффузных формах поражения печени [11].

• *Желудочно-кишечное кровотечение* – при локализации ИГ на слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта [13].

Инфантильные гемангиомы, приводящие к функциональным расстройствам/локальным осложнениям (некроз/изъязвление/вторичное инфицирование/кровотечение)/риску развития эстетических проблем

Все вышеперечисленные осложнения очень взаимосвязаны, и это обусловлено в основном особенностями локализации ИГ.

Гемангиомы особых локализаций/высокого риска (*рисунк 2*) [14]:

- *пальпебральная*: страбизм, астигматизм, амблиопия пораженного глаза. Последнее является самым грозным осложнением (частота 43–60%) [15]. Внутриорбитальная и ретроорбитальная локализации могут привести к инфильтрации глазодвигательных мышц, сдавлению зрительного нерва с его вторичной атрофией;

- *лабиальная*: поражение верхней губы приводит к слюнотечению, расстройству сосания, нарушению формирования челюсти и зубов. Поражение нижней губы может приводить к снижению ее мышечной силы, а в 1/3 случаев сопровождается поражением подглоточного пространства;

- *назальная/аурикулярная*: повреждение и деформация хрящевых структур в результате некроза и вторичного инфицирования; обтурация воздухоносных путей/потеря слуха;

- *околоушная область*: может приводить к поражению лицевого нерва;

- *перинеальная*: очень высокий риск развития некроза, изъязвления (80% при объеме 5 см³ и более) и вторичного инфицирования, а также наличия различных мальформаций (ано-уро-генитальных), которые могут привести к нарушениям микции и дефекации. Данные аномалии могут потребовать хирургической коррекции после купирования проявлений гемангиомы;

- *сакральная*: вероятность интраспинального распространения с возможным развитием нижнего парапареза и расстройств со стороны мочевыделительной системы;

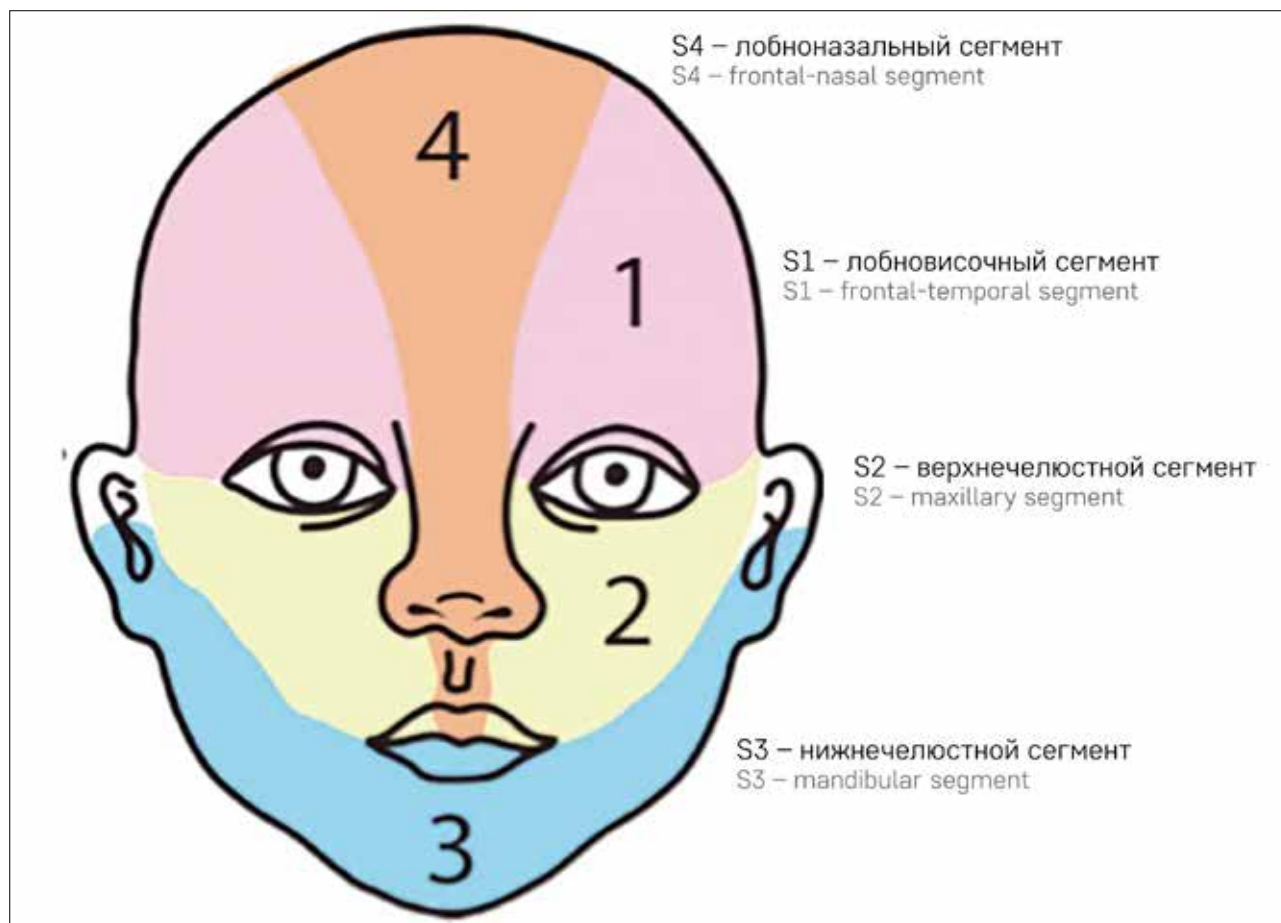
- *околососковая область*: нарушение развития молочных желез, асимметрия грудной клетки и молочных желез;

- *область стопы/кисти*: двигательные расстройства.

Для всех вышеперечисленных локализаций характерны такие осложнения, как некроз, спонтанное изъязвление со вторичным инфицированием, сопровождающиеся болевым синдромом. Локальные осложнения являются самыми частыми (16%) [16] и происходят в пролиферативную фазу [17]. Помимо локализации к факторам риска их развития относят также размер опухоли, расположение в области естественных складок и на

Рисунок 1
Сегментарное деление головы [9]

Figure 1
Segmental division of the head [9]



границе со слизистыми. Изъязвленные участки и некротические изменения могут оставлять после себя рубцовые изменения.

Необходимо отдельно выделить ИГ, сопровождающиеся структурными аномалиями. Они встречаются при так называемых сегментарных ИГ, которые требуют особого внимания, так как представляют собой не только эстетическую проблему, но и могут скрывать грубые функциональные изменения со стороны других органов и систем. Два больших синдрома, ассоциированные с различными висцеральными и сосудистыми аномалиями:

1. Синдром LUMBER: PELVIS (perineal angioma, external genital malformation, lipomyelomeningocele, vesicorenal abnormalities, imperforate anus, skin tag)/SACRAL (spinal dysraphism, anogenital, cutaneous, renal and urologic malformation, angioma lombosacral) ассоциируется с наличием огромной гемангиомы пояснично-крестцовой области/перинеальной с ано-генито-везико-ренальными и спинальными аномалиями.

2. Синдром PHACE/PHACES (posterior fosse abnormalities, hemangioma, arteries anomalies, coarctation aortic, eyes troubles/sternal malformations) ассо-

циируется с гигантской гемангиомой лица, неврологическими, кардиоваскулярными и окулярными аномалиями [18].

Остаточные проявления инфантильной гемангиомы

В своем исходе ИГ приблизительно в половине случаев могут привести к значимым локальным изменениям мягких тканей [5, 6], среди которых:

- телеангиэктазии (84,3%);
- фиброзно-жировые изменения (47,1%);
- атрофия кожи (32,6%);
- рубцовые изменения.

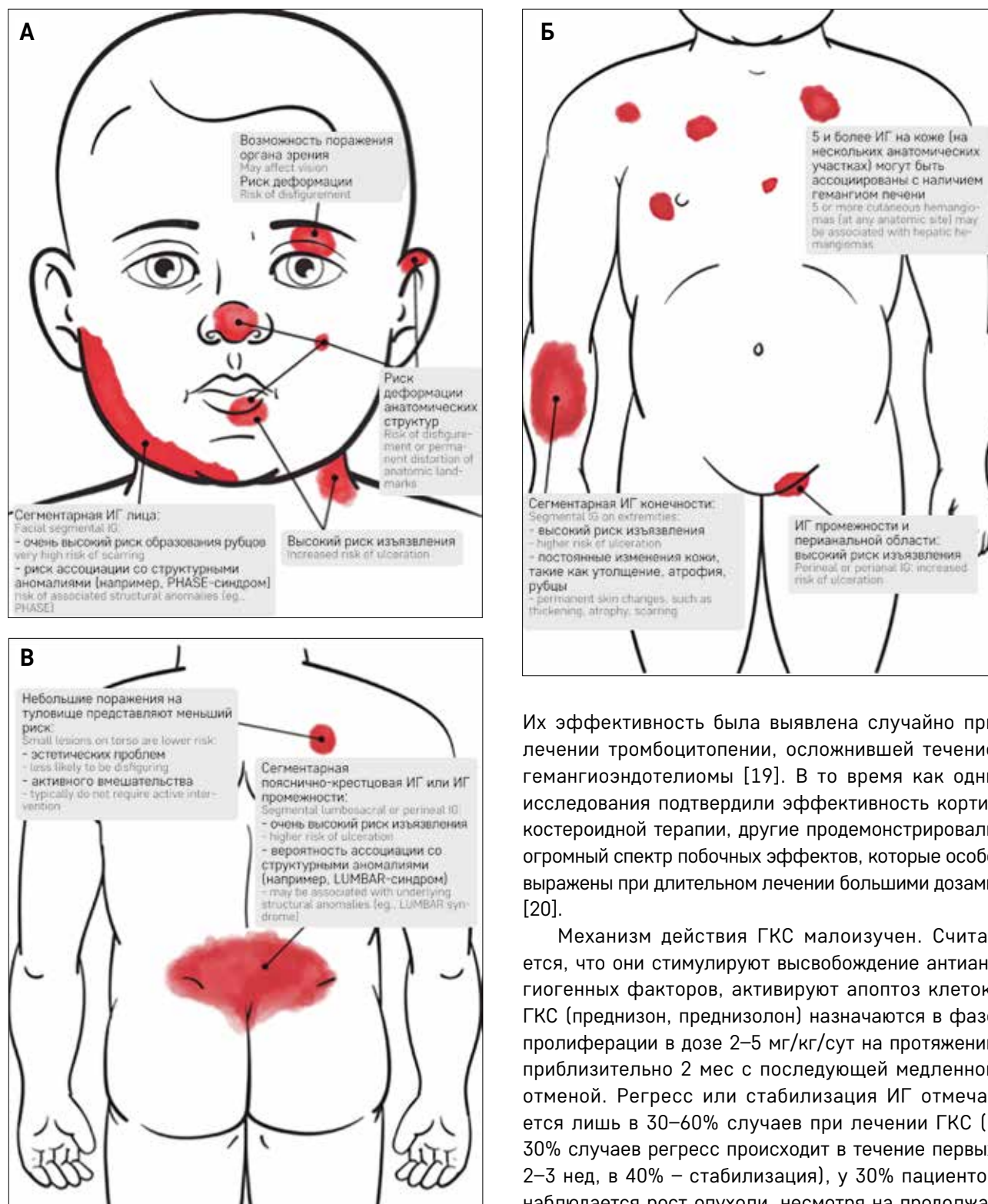
Чаще всего вторичные рубцовые изменения наблюдаются при смешанных формах ИГ. Факторами риска также являются объем поверхностной части ИГ и характеристики ее рельефа (бугристая поверхность по типу «булыжной мостовой») [5, 17].

Терапия

Ниже приведены основные методы лечения, которые на протяжении длительного времени являлись стандартом при лечении ИГ.

Рисунок 2
ИГ высокого риска

Figure 2
High-risk IH



Системная кортикостероидная терапия

Основным терапевтическим агентом при лечении ИГ долгое время, начиная с 60-х годов прошлого столетия, были глюкокортикостероиды (ГКС), которые применялись как системно, так и местно.

Их эффективность была выявлена случайно при лечении тромбоцитопении, осложнившей течение гемангиоэндотелиомы [19]. В то время как одни исследования подтвердили эффективность кортикостероидной терапии, другие продемонстрировали огромный спектр побочных эффектов, которые особо выражены при длительном лечении большими дозами [20].

Механизм действия ГКС малоизучен. Считается, что они стимулируют высвобождение ангиогенных факторов, активируют апоптоз клеток. ГКС (преднизон, преднизолон) назначаются в фазе пролиферации в дозе 2–5 мг/кг/сут на протяжении приблизительно 2 мес с последующей медленной отменой. Регресс или стабилизация ИГ отмечается лишь в 30–60% случаев при лечении ГКС (в 30% случаев регресс происходит в течение первых 2–3 нед, в 40% – стабилизация), у 30% пациентов наблюдается рост опухоли, несмотря на продолжающуюся кортикостероидную терапию. Дозу препарата снижают медленно в течение месяцев. Быстрая редукция дозы ГКС может привести к «рикошету» с последующей потерей ответа при возобновлении терапии в инициальной дозе. Применение ГКС сопровождается большим спектром побочных

эффектов. Одни из них являются «доброкачественными» (проходящими): вторичный синдром Кушинга, нарушение сна, раздражительность, гастроэзофагеальный рефлюкс, акне, остеопороз, другие же более значимые и серьезные:

- артериальная гипертензия;
- обструктивная гипертрофическая кардиомиопатия;
- надпочечниковая недостаточность;
- вторичная иммуносупрессия, ассоциированная с высоким риском развития пневмоцистной пневмонии;
- эрозивно-язвенные поражения желудочно-кишечного тракта с угрозой кровотечения;
- задержка физического развития (необходимо отметить, что восстановление темпов роста происходит в течение 6–24 мес после отмены ГКС) [21].

Таким образом, необходимые для достижения эффекта дозы и длительность терапии ГКС неизбежно приводят к развитию тяжелых побочных эффектов. Это не позволяет рекомендовать данную терапию в качестве стандартной.

Локальная глюкокортикостероидная терапия

Локальная терапия ГКС назначается при невозможности их системного применения и проведения хирургического вмешательства. Используется триамцинолон ретард в дозе 3–5 мг/кг на 1 процедуру. Инъекции проводятся в нескольких точках под общей анестезией. Курс терапии составляет 2–3 процедуры с интервалом 2–3 мес. Эффективность аналогична таковой при системной кортикостероидной терапии – 50%. Побочные эффекты лимитированы локальными изменениями кожи [21].

Интерферон- α -2a и интерферон- α -2b

В конце 80-х – начале 90-х годов прошлого века свою активность в лечении резистентных к ГКС форм ИГ показал интерферон- α , который обладает противоопухолевым и антиангиогенным действиями.

Мощный антиангиогенный эффект достигается снижением пролиферативной активности эндотелиальных клеток за счет ингибирования фактора роста фибробластов (FGF). Это препарат второй линии, который назначается при неэффективности ГКС. Доза составляет от 1 до 3 млн ЕД/м²/сут подкожно. Терапия длительная: от 6 до 12 мес. В 45% случаев достигается полный ответ, первые признаки регресса заболевания отмечаются в интервале 2–12 нед терапии. Эффективность препарата неоспорима, но терапия может сопровождаться тяжелыми нежелательными осложнениями [19, 22]. К наиболее частым побочным эффектам, которые обычно наблюдаются в дебюте лечения, относится псевдогриппозный синдром (темпера-

тура, мышечные боли). Но самыми грозными являются:

- гематологическая токсичность (нейтропения);
- печеночная токсичность (повышение трансаминаз);
- гипотиреоз;
- депрессивный синдром;
- **нейротоксичность!** в виде спастической диплегии и задержки физического развития, которая может быть значимой и развиваться в 10–30% случаев. Неврологические осложнения обычно наблюдаются у детей до 1 года, что значительно ограничивает его применение [23].

Винкристин

После выявления грубых неврологических осложнений при назначении интерферона стали применяться другие препараты с известным антиангиогенным действием, ранее назначаемые при более агрессивных сосудистых опухолях (капошиформная гемангиоэндотелиома). Наиболее часто используемым является винкристин. Это химиопрепарат, который обладает антиангиогенным эффектом, вызывая апоптоз пролиферирующих клеток путем воздействия на веретено деления. Он является препаратом второй линии и применяется при осложненных и висцеральных формах ИГ, а также при неэффективности ГКС. Доза составляет 0,05 мг/кг или 1 мг/м² внутривенно 1 раз в неделю. Длительность терапии составляет 15–24 нед. Начиная с 3-й недели терапии, отмечается регрессия заболевания. Эффективность терапии приближается к 100%.

Побочные эффекты винкрестина многочисленны [24]:

- алопеция;
- запоры/динамическая кишечная непроходимость;
- абдоминальный болевой синдром с развитием паралитического илеуса;
- боль в челюсти;
- периферическая полинейропатия;
- гематологическая токсичность (особенно нейтропения);
- синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона.

Хирургические методы лечения

Большое место было отведено хирургическим методам лечения, включая своевременные методики, такие как эмболизация «питающих» сосудов. В настоящее время хирургия не является методом выбора. Она может быть предложена в следующих ситуациях:

- рано развившийся некроз мягких тканей;
- грубые функциональные расстройства со стороны органов зрения и слуха;

- остаточные проявления (персистенция резидуального объема после инволюции);
- деформация анатомических структур.

Лазер

Лазер эффективен только в отношении поверхностных форм ИГ, а также капиллярных мальформаций. Это связано с ограниченной глубиной проникновения. Лечение очень болезненно и должно проводиться только под общей анестезией. Возможно развитие пигментации или депигментации кожи, а также локальной атрофии кожи в месте воздействия лазера. Данный метод лечения может приводить к вторичным локальным осложнениям (некроз, изъязвление, инфицирование). Во многом эти осложнения связаны с длиной волны и длительностью воздействия. Данный вид лечения может быть применен также для коррекции косметических дефектов постинволюционной стадии [25].

Криотерапия

Этот вид лечения эффективен только в отношении поверхностных форм. Требуется неоднократного применения. Процедура болезненная, лечение проводится под общей анестезией. Может приводить к локальным осложнениям: развитию некрозов, изъязвлений с вторичным инфицированием.

Радиотерпия

На сегодняшний день радиотерапия – это «забытый» метод лечения. Он имеет неоспоримый эффект, но, к сожалению, отдаленные последствия весьма серьезны: злокачественные опухоли мягких тканей, щитовидной железы, центральной нервной системы.

Современная терапия

Большая часть лечебного арсенала обладает парциальным эффектом и весьма сомнительным профилем переносимости/безопасности. Высокая частота серьезных осложнений требовала поиска нового препарата, у которого соотношение эффективность/побочные эффекты было бы высоким.

Последние 10–12 лет β -блокаторы, в частности пропранолол (PP), стали «золотым стандартом» в лечении ИГ.

PP – это неселективный β -блокатор с преимущественным воздействием на β_2 -адренорецепторы эндотелиальных клеток. Был синтезирован шотландским фармакологом в 1960 г. James W. Black (лауреат Нобелевской премии по медицине, 1988 г.). PP долгое время (с 1964 г.) применяется в педиатрической практике для лечения сердечно-сосудистых заболеваний [26–28]:

- аритмий (2–4 мг/кг/сут);

- артериальной гипертензии (4 мг/кг/сут);
- обструктивной гипертрофической кардиомиопатии (2–3 мг/кг/сут);
- одышно-цианотических приступов при тетраде Фалло (3 мг/кг/сут).

Его эффективность была выявлена случайно в 2006 г. французскими дерматологами при лечении вторичной гипертрофической кардиомиопатии у пациента с ИГ, получавшего ГКС по поводу основного заболевания. На фоне терапии PP отмечалась полная регрессия опухолей. В 2008 г. Leauté-Labreze и соавт. опубликовали данное наблюдение. Аналогичные результаты были опубликованы при лечении PP ИГ у 11 пациентов [29], годом позже – по успешному лечению PP 32 пациентов с ИГ. Доза препарата составляла от 2 до 3 мг/кг/сут. Были отмечены быстрое достижение ответа и хорошая переносимость [30]. В следующие несколько лет применение PP при лечении ИГ неоднократно становилось объектом исследований, подтвердивших эффективность и хорошую переносимость препарата [31–36].

До конца механизм его действия при ИГ остается неизвестным. Обсуждаются три основных возможных механизма действия: вазоконстрикция, подавление ангиогенеза, а также индукция апоптоза [37]:

I. Периферическая вазоконстрикция (с первых дней приема препарата уменьшается кровоток в опухоли, что клинически проявляется изменением цвета и уменьшением плотности гемангиомы), которая достигается за счет:

1) непосредственного блокирования β_2 -адренорецепторов, а также

2) подавления экспрессии NO-синтазы (NO – монооксид азота) в ткани опухоли, что приводит к снижению синтеза NO (рисунки 3). Кроме того, NO является мощным эндотелиальным митогеном и стимулятором продукции проангиогенных факторов роста, внося таким образом вклад в долгосрочное подавление роста опухоли [38].

II. Антиангиогенный эффект. Данный механизм достигается за счет:

- 1) блокирования проангиогенных факторов,
- 2) ингибирования ERK-сигнального пути,
- 3) блокирования синтеза металлопротеиназ.

Известно, что два проангиогенных фактора являются основными для роста сосудистых опухолей: VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) и bFGF (основной фактор роста фибробластов). VEGF – является критическим фактором для роста ИГ. Весьма вероятным выглядит предположение, что эффект PP опосредован супрессией VEGF (рисунки 4).

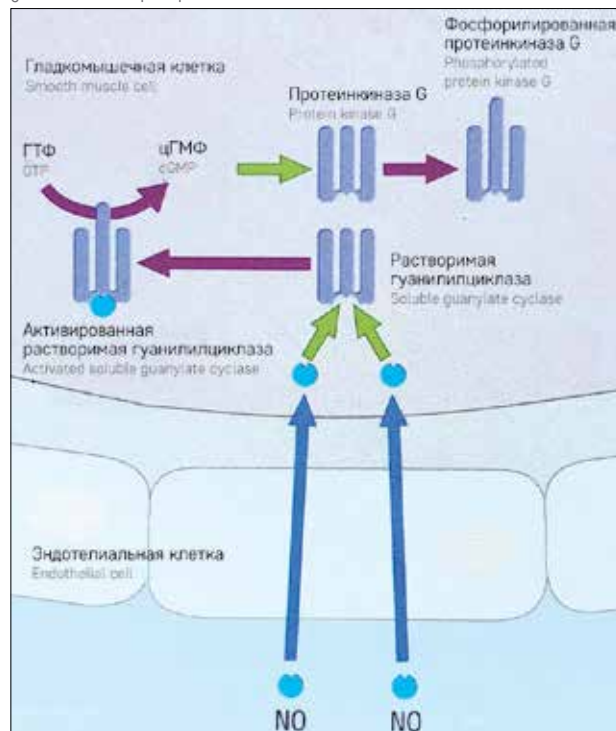
Подавление выработки проангиогенных факторов происходит за счет непосредственного воздействия на β -адренорецепторы, расположенные на эндотелиальных клетках пролиферирующих ИГ, а также

Рисунок 3**Клеточные механизмы действия NO [39]**

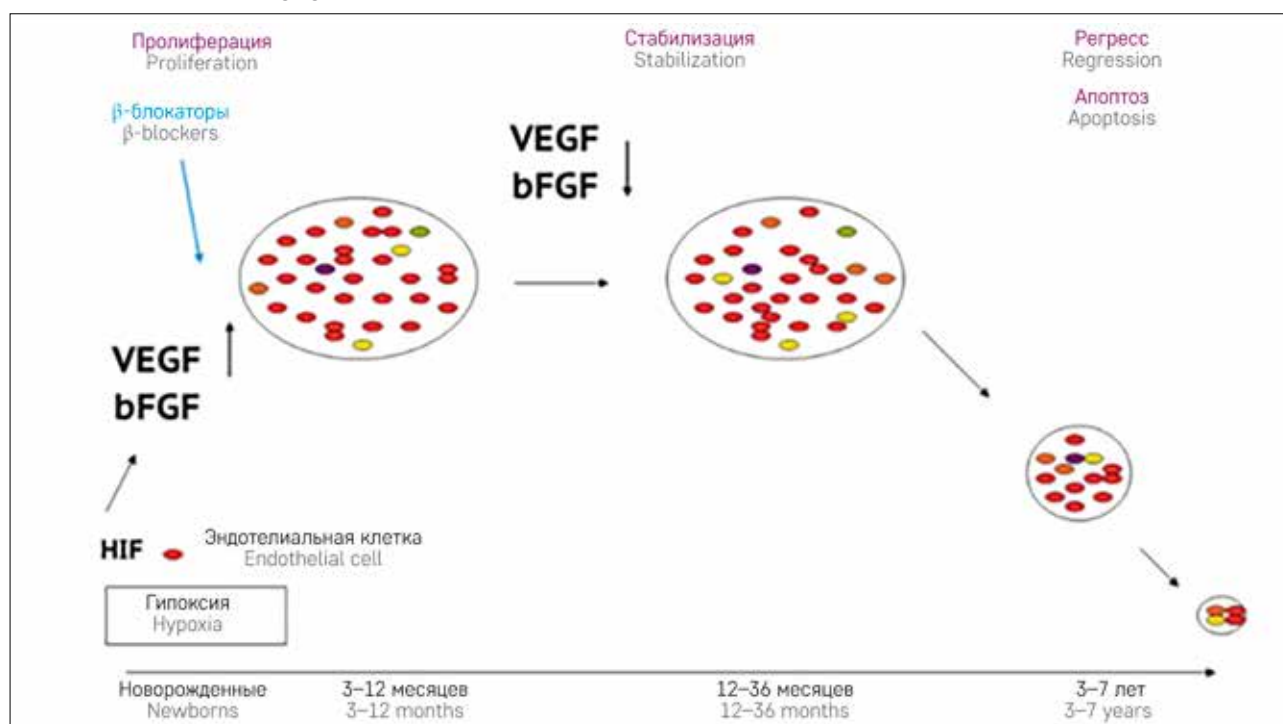
NO воздействует на первичную молекулярную мишень – растворимую гуанилилциклазу. Продукт (фосфорилированная протеинкиназа) вызывает расслабление гладких мышц сосудов путем фосфорилирования (и инактивации) киназы легких цепей миозина. ГТФ – гуанозинтрифосфат; цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

Figure 3**Cellular mechanisms of action of NO [39]**

Nitrogen monoxide (NO) accesses the primary molecular target – soluble guanylyl cyclase. The product (phosphorylated protein kinase) causes vascular smooth muscle relaxation by phosphorylating (and inactivating) myosin light chain kinase. GTP – guanosine triphosphate. cGMP – cyclic guanosine monophosphate

**Рисунок 4****Действие β-блокаторов на ангиогенез при ИГ [37]****Figure 4**

Effect of β-blockers on angiogenesis in IH [37]



за счет снижения выработки монооксида азота [39] (рисунк 5).

Кроме того, PP подавляет VEGF-индуцированное фосфорилирование рецептора VEGFR2, приводя таким образом к ингибированию сигнального пути ERK, задействованного в процессах ангиогенеза (рисунк 6) [40].

Немаловажную роль играет также блокирование формирования сосудистых трубочек и секреции матричных металлопротеиназ (MMP-2, MMP-9) опухолевыми клетками и ИЛ-6 (проангиогенный цитокин) [41] и в целом неоваскулогенеза за счет блокирование Raf/MAPK-пути (рисунк 7). В эксперименте Thaivalappil и соавт. на модели сосудистой опухоли с использованием клеток эндотелиомы было показано, что ингибирование матричных металлопротеиназ блокирует рост опухоли [42].

III. Индукция апоптоза. В периоде роста (пролиферации) опухоли процессы апоптоза заторможены. Уменьшение концентрации VEGF приводит к ингибированию пролиферации эндотелиальных и мезенхиальных клеток с последующим их апоптозом [43]. Необходимо отметить, что данный феномен больше связан с воздействием на β_2 -адренорецепторы, так как селективные β -адреноблокаторы в меньшей степени способствуют апоптозу.

Еще одним возможным механизмом действия PP служит ингибирование ренин-ангиотензиновой системы, что приводит к торможению пролиферации незрелых эндотелиальных клеток, «переключая» стадию развития гемангиомы с пролиферативной в инволютивную [44].

Благодаря длительному применению в кардиологии профиль безопасности и побочные эффекты

Рисунок 5

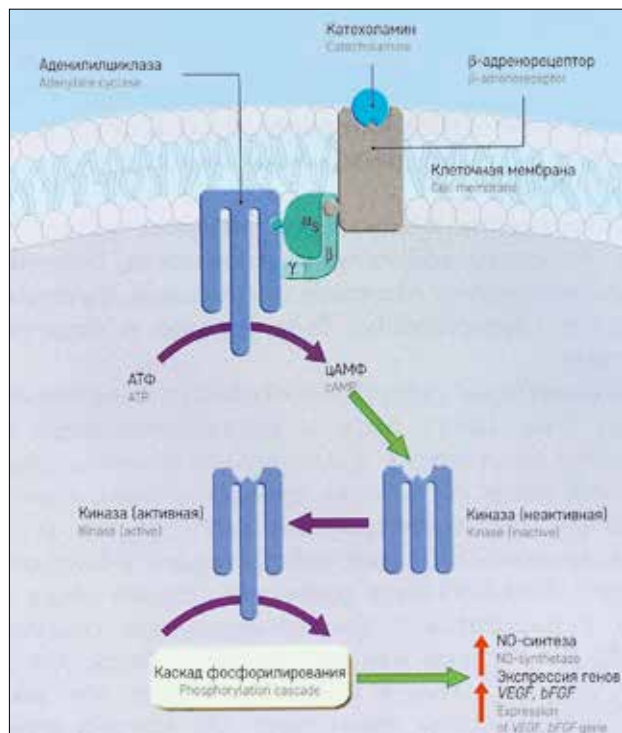
Клеточные механизмы действия антагонистов β -адренорецепторов [39]

Стимуляция β -адренорецепторов ведет к активации аденилциклазы и повышению уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Этот процесс ингибируют антагонисты β -адренорецепторов. АТФ – аденозинтрифосфат

Figure 5

Cellular mechanisms of action of β -adrenergic receptor antagonists [39]. ATP – adenosine triphosphate

The stimulation of β -adrenergic receptors results in adenylyl cyclase activation and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) elevation. This process is inhibited by β -adrenergic receptor antagonists. ATP – adenosine triphosphate



PP хорошо известны и документированы [26, 28, 29].

Метаанализ публикаций [45–47] показал достоверную эффективность PP (при всех видах локализаций), а также хорошую переносимость и относительную редкость побочных эффектов по сравнению с другими препаратами и методами лечения (преднизолон, винкристин, лазер). Выделяют дозозависимые и дозозависимые эффекты.

К дозозависимым эффектам относят:

- гиперреактивность бронхов (бронхоспазм);
- желудочно-кишечные расстройства: гастроэзофагеальный рефлюкс, диарея. Чаще всего данные побочные эффекты наблюдаются при дозе 3 мг/кг/сут.

Дозозависимые эффекты:

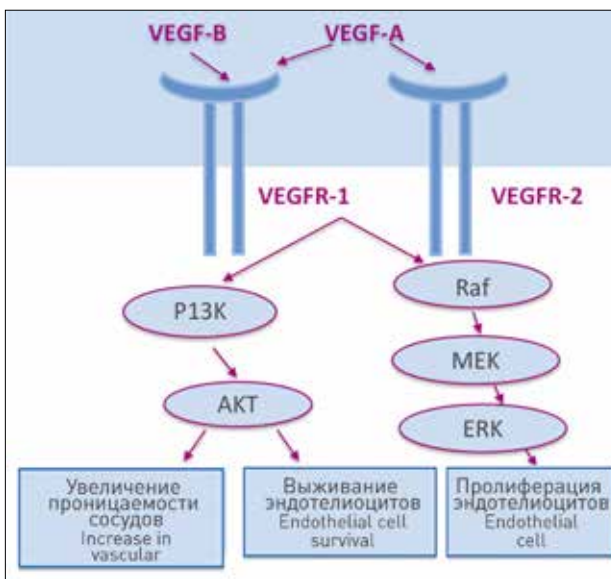
- холодные конечности;
- снижение диастолического давления, приводящее к асимптоматической гипотензии;
- риск развития гипогликемии в неонатальном периоде и при голодании;
- нарушения ритма (брадикардия, АВ-блокады);
- гиперкалиемия при гигантских ИГ в результате лизиса опухоли;

Рисунок 6

Сигнальный путь ERK

Figure 6

ERK signal path



– тревожный сон/нарушение сна (ночные пробуждения). Данный побочный эффект наблюдается в связи с липофильностью молекулы и ее проникновением через гематоэнцефалический барьер;

– сыпь.

К числу наиболее распространенных побочных эффектов препарата, по данным В.А. Drolet и соавт. [28], относятся нарушение сна (3,7%), асимптоматическая артериальная гипотензия (2,8%), периферическая вазоконстрикция (2,2%), брадикардия, гипогликемия (0,9%), а также бронхоспазм, кожная сыпь и диарея [27, 28]. Снижение частоты сердечных сокращений и диастолического давления наблюдается в первые часы приема PP. Существует ряд противопоказаний к назначению данного препарата (таблица 2) [48].

Практически все перечисленные противопоказания редко встречаются у детей до 1 года.

Особо необходимо отметить про терапию β -адреноблокаторами при РНАСЕ-синдроме. Очень мало данных по применению PP при данном синдроме. Назначая этот препарат, надо помнить о высоком риске снижения перфузии в сосудах головного мозга при условии наличия серьезных цереброваскулярных аномалий, сопровождающихся снижением кровотока или значимым стенозом сосудов, что еще больше может усугубить ишемию. Кроме того, наличие серьезных мальформаций магистральных артерий при данном синдроме также может быть причиной отказа от назначения препарата. Решение о терапии должно быть принято коллегиально с обязательным участием кардиолога.

Достигнутые успехи в лечении гемангиом позволяют рекомендовать применение PP в качестве

Рисунок 7

Триггерный механизм патологического ангиогенеза

Триггерный механизм патологического ангиогенеза: инактивация генов опухолевой супрессии/активация онкогенов в ответ на гипоксию

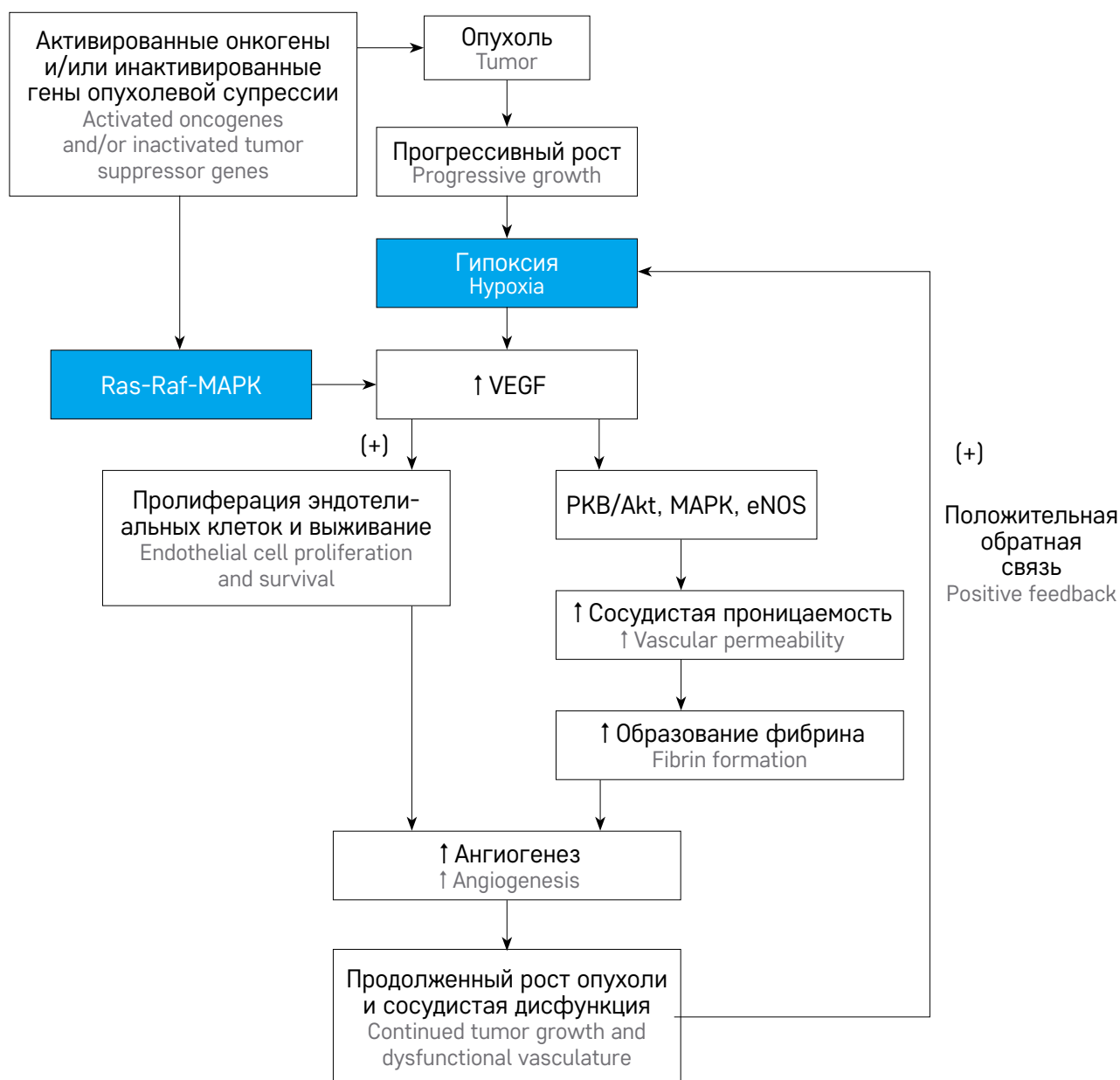
Figure 7

The triggering mechanism of pathological angiogenesis

The triggering mechanism of pathological angiogenesis: inactivated tumor suppressor genes/activated oncogenes versus hypoxia

VEGF и его рецепторы

VEGF and his receptors



терапии первой линии при лечении ИГ (Европейские рекомендации, 2015 г.) [49].

Стандартная доза РР, применяемая для лечения ИГ, составляет 2–3 мг/кг/сут, разделенная на 3 приема с интервалом не менее 6 ч. В одном из исследований 2015 г. С. Léauté-Labrèze и соавт. наибольшую эффективность показала доза 3 мг/кг/сут [50]. Целевая доза достигается посте-

пенной эскалацией стартовой, которая составляет 0,5–1 мг/кг/сут. Препарат должен быть назначен в фазе пролиферации для быстрого прекращения роста опухоли и предотвращения потенциальных осложнений со стороны ИГ, которые могут наблюдаться. Перед началом терапии необходимы физикальное обследование и прицельный сбор анамнеза на предмет патологии сердечно-сосудистой и дыха-

тельной систем, а также проведение таких рутинных исследований, как общий и биохимический анализы крови, электрокардиография, холтеровское мониторирование, эхокардиография. В целях предотвращения эпизодов гипогликемии необходимо помнить о недопустимости голодания и необходимости прекращения приема препарата в случае интеркуррентных заболеваний, особенно сопровождающихся нарушениями приема пищи [51, 52]. Продолжительность терапии неизвестна. По литературным данным, варьирует от 3 до 12 мес. Во многом длительность зависит от размеров и типа ИГ (поверхностная или глубокая). Именно она будет определять длительность пролиферативного процесса и, соответственно, продолжительность терапии. В настоящее время рекомендуемый минимальный курс терапии должен составлять не менее 6 мес [1]. В самых благоприятных ситуациях 6 мес достаточно для полного разрешения ИГ. Сокращение размеров опухоли более чем на 50%, по данным разных авторов, наблюдается в 80–100% случаев [53–56]. Скорость ответа на терапию РР по полученным данным варьировала в широких пределах: от начала приема препарата до появления видимых признаков регресса опухоли проходило от 24 ч до 6 нед [57, 58]. Объективная оценка ответа на терапию возможна через 2 мес. Предпочтительной является постепенная (в течение 2–3 нед) отмена препарата, так как резкое прекращение приема в 12–17% случаев может вызывать рецидив заболевания разной степени выраженности: от незначительного усиления окраски до «рикошетного» роста опухоли [59, 60].

Таблица 2
Противопоказания к назначению РР

Table 2
Contraindications for prescription of propranolol

Недоношенные, у которых скорректированный возраст меньше 35 дней Preterm infants whose correlated age is less than 35 days
Новорожденные, находящиеся на грудном вскармливании, матери которых получают лекарственные препараты, не совместимые с РР Newborns who are breastfed and whose mother receives medications that are not compatible with propranolol
Астма или бронхоспазм в анамнезе Anamnesis of asthma or bronchospasm
Атриовентрикулярная блокада II–III степени/нарушения работы синусового узла (включая синоаурикулярную блокаду), синусовая брадикардия Grade II–III atrioventricular block/sinus node disorders (including sinoauricular block), sinus bradycardia
Феномен Рейно и другие нарушения периферического кровообращения Raynaud's phenomenon and other peripheral circulatory disorders
Предрасположенность к гипогликемии Predisposition to hypoglycemia
Кардиогенный шок Cardiogenic shock
Сердечная недостаточность Heart failure
Артериальная гипотензия Arterial hypotension
Феохромоцитома Pheochromocytoma

Такая ситуация возможна при условии прекращения лечения в период продолжающегося роста опухоли, т. е. до возраста 1 года. Если опухоль гигантская, с массивным подкожным компонентом, завершение лечения в возрасте 18 месяцев также может привести к рецидиву заболевания. Несмотря на высокую, практически 100%, эффективность терапии РР, описаны очень редкие случаи резистентности к проводимому лечению. По данным французских авторов, 0,45–0,9% пациентов резистентны к терапии [61]. Под резистентностью подразумевают продолжающийся рост опухоли либо стабильность объема при проведении терапии РР в дозе 3 мг/кг/сут на протяжении 5 нед. Обычно речь идет о резистентности при проведении терапии в дозе 2 мг/кг/сут. Резистентность преодолелась увеличением дозы от 3 до 4 мг/кг/сут [21].

В настоящее время также широко обсуждается терапия другими β -блокаторами, в частности селективным β_1 -адреноблокатором атенололом. Этот препарат имеет лучший профиль безопасности, нежели неселективные β -блокаторы, так как нет воздействия на β_2 -адренорецепторы, что «снимает» их влияние на легкие, поджелудочную железу, снижая риски гипогликемии и бронхоспазма. Кроме того, атенолол в отличие от РР является водорастворимым препаратом и, соответственно, не проникает через гематоэнцефалический барьер и не оказывает влияние на центральную нервную систему. А более продленное время полувыведения делает возможным применение препарата 1 раз в сутки. Ряд исследований (ретроспективных, проспективных) показали высокую, сопоставимую с РР, эффективность атенолола, а также хорошую переносимость [62, 63]. Терапия данным препаратом может быть рекомендована при наличии противопоказаний или плохой переносимости РР, однако необходимо отметить, что до настоящего времени проводятся рандомизированные исследования для окончательного подтверждения сопоставимой эффективности неселективных и селективных β -адреноблокаторов.

Такие же исследования проводятся для изучения эффективности и безопасности применения топических форм β -адреноблокаторов (тимолол) [64]. Был проведен метаанализ, включающий 691 пациента, который показал высокую эффективность (91%) и безопасность при применении 0,5% геля тимолола при лечении ИГ [65]. Необходимы дальнейшие исследования для определения дозы препарата, кратности его нанесения, а также определения показаний: при каких формах, локализациях, распространенности ИГ может быть рекомендована терапия топическими β -адреноблокаторами.

К сожалению, несмотря на доказанную эффективность β -адреноблокаторов, исторически сложившаяся концепция лечения ИГ ГКС, интерфероном,

хирургическими методами, лазером, остается до настоящего времени базисной и широко применяется вопреки известной токсичности и относительной эффективности.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Khachatryan L.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7265-0414>

Литература

1. Léauté-Labrèze C., Haper J.I., Hoeger P.H. Infantile haemangioma. *Lancet* 2017; 390 (10089): 85–94. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00645-0
2. Wassef M., Vanwijk R., Clapuyt P., Boon L., Magalon G. Tumeurs et malformations vasculaires, classification anatomopathologique et imagerie. *Ann Chir Plast Esthet* 2006; 51 (4–5): 263–81.
3. Chang L.C., Haggstrom A.N., Drolet B.A., Baselga E., Chamlin S.L., Garzon M.C., et al. Growth characteristics of infantile hemangiomas: implications for management. *Pediatrics* 2008; 122 (2): 360–7.
4. Chiller K.G., Passaro D., Frieden I.J. Hemangiomas of infancy: clinical characteristics, morphologic subtypes, and their relationship to race, ethnicity, and sex. *Arch Dermatol* 2002; 138 (12): 1567–76.
5. Baselga E., Roe E., Coulie J., Munoz F.Z., Boon L.M., McCuaig C., et al. Risk Factors for Degree and Type of Sequelae after involution of untreated hemangiomas of infancy. *JAMA Dermatol* 2016; 152 (11): 1239–43.
6. Bauland C.G., Lüning T.H., Smit J.M., Zeebregts C.J., Spauwen P.H.M. Untreated hemangiomas: growth pattern and residual lesions. *Plast Reconstr Surg* 2011; 127 (4): 1643–8.
7. Rahbar R., Nicollas R., Roger G., Triglia J.-M., Garabedian E.-N., McGill T.J., et al. The biology and management of subglottic hemangioma: past, present, future. *Laryngoscope* 2004; 114 (11): 1880–91.
8. Badi A.N., Kerschner J.E., North P.E., Drolet B.A., Messner A., Perkins J.A. Histopathologic and immunophenotypic profile of subglottic hemangioma: multicenter study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009; 73 (9): 1187–91.
9. Haggstrom A.N., Garson M.C., Baselga E., Chamlin S.L., Frieden I.J., Holland K., et al. Risk for PHACE syndrome in infant with large facial hemangioma. *Pediatrics* 2010; 126: 418–26.
10. Christison-Lagay E.R., Burrows P.E., Alomari A., Dubois J., Kozakewich H.P., Lane T.S., et al. Hepatic hemangiomas: subtype classification and development of a clinical practice algorithm and registry. *J Pediatr Surg* 2007; 42 (1): 62–7; discussion 67–68.
11. Kulungowski A.M., Alomari A.I., Chawla A., Christison-Lagay E.R., Fishman S.J. Lessons from a liver hemangioma registry: subtype classification. *J Pediatr Surg* 2012; 47: 165–70.
12. Huang S.A., Tu H.M., Harney J.W., Venihaki M., Butte A.J., Kozakewich H.P., Fishman S.J., Larsen P.R. Severe hypothyroidism caused by type 3 iodothyronine deiodinase in infantile hemangiomas. *N Engl J Med* 2000; 343 (3): 185–9.
13. Levy A.D., Abbott R.M., Rohrmann C.A., Frazier A.A., Kende A. Gastrointestinal hemangiomas: imaging finding with pathologic correlation in pediatric and adult patients. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177 (5): 1073–81.
14. Krowchuk D.P., Frieden I.J., Mancini A.J., Darrow D.H., Blei F., Greene A.K., et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Infantile Hemangiomas. *Pediatrics* 2019; 143 (1): e20183475.
15. Dubois J., Milot J., Jaeger B.I., McCuaig C., Rousseau E., Powell J. Orbit and eyelid hemangiomas: is there a relationship between location and ocular problems? *J Am Acad Dermatol* 2006; 55 (4): 614–9.
16. Haggstrom A.N., Drolet B.A., Baselga E., Chamlin S.L., Garzon M.C., Horii K.A., et al. Prospective study of infantile hemangiomas: clinical characteristics predicting complications and treatment. *Pediatrics* 2006; 118 (3): 882–7.
17. Léauté-Labrèze C., Prey S., Ezzedine K. Infantile hemangioma: Part I. Pathophysiology, epidemiology, clinical features, life cycle and associated structural abnormalities. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2011; 25 (11): 1245–53.
18. Frieden I.J., Haggstrom A.N., Drolet B.A., Mancini A.J., Friedlander S.F., Boon L., et al. Infantile hemangiomas: current knowledge, future directions. Proceedings of a research workshop on infantile hemangiomas, April 7–9, 2005, Bethesda, Maryland, USA. *Pediatr Dermatol* 2005; 22 (5): 383–406.
19. Katz H.P., Askin J. Multiple hemangiomas with thrombopenia. An unusual case with comments on steroid therapy. *Am J Dis Child* 1968; 115 (3): 351–7.
20. Fuchsmann C., Quintal M.-C., Giguere C., Ayari-Khalfallah S., Guibaud L., Powell J., et al. Propranolol as first-line treatment of head and neck hemangiomas. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 137 (5): 471–8.
21. Peshechodova E. Prise en charge de l'hémangiome infantile. These pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. 2015. P. 19.
22. Barrio V.R., Drolet B.A. Treatment of hemangiomas of infancy. *Dermatol Ther* 2005; 18 (2): 151–9.
23. Holland K.E., Drolet B.A. Infantile hemangioma. *Pediatr Clin North Am* 2010; 57 (5): 1069–83.
24. Enjolras O., Brevière G., Roger G., Tovi M., Pellegrino B., Varotti E., et al. Traitement par vincristine des hémangiomes graves du nourrisson. *Arch Pediatr* 2004; 11 (2): 99–107.
25. David L.R., Malek M.M., Argenta L.C. Efficacy of pulse dye laser therapy for the treatment of ulcerated haemangiomas: a review of 78 patients. *Br J Plast Surg* 2003; 56 (4): 317–27.
26. Fette A. Propranolol in use for treatment of complex infant hemangiomas: literature review regarding current guidelines for preassessment and standards of care before initiation of therapy. *ScientificWorldJournal* 2013; 2013: 850193.
27. Starkey E., Shahidullah H. Propranolol for infantile haemangiomas: a review. *Arch Dis Child* 2011; 96 (9): 890–3.
28. Drolet B.A., Frommelt P.C., Chamlin S.L., Haggstrom A., Bauman N.M., Chiu Y.E., et al. Initiation and use of propranolol for infantile hemangioma: report of a consensus conference. *Pediatrics* 2013; 131 (1): 128–40.
29. Léauté-Labrèze C., de la Roque E.D., Hubiche T., Boralevi F., Thambo J.-B., Taïeb A. Propranolol for severe hemangiomas of infancy. *N Engl J Med* 2008; 358 (24): 2649–51.
30. Sans V., de la Roque E.D., Berge J., Grenier N., Boralevi F., Mazereeuw-Hautier J., et al. Propranolol for severe infantile hemangiomas: follow-up report. *Pediatrics* 2009; 124 (3): e423–31.
31. Vlastarakos P.V., Papacharalampous G.X., Chrysostomou M., Tavoulari E.F., Delidis A., Protopapas D., et al. Propranolol is an effective treatment for airway haemangiomas: a critical analysis and meta-analysis of published interventional studies. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2012; 32 (4): 213–21.
32. Hogeling M., Adams S., Wargon O. A randomized controlled trial of propranolol for infantile hemangiomas. *Pediatrics* 2011; 128 (2): e259–66.
33. Izadpanah A., Izadpanah A., Kanevsky J., Belzile E., Schwarz K. Propranolol versus corticosteroids in the treatment of infantile hemangioma: a systematic review and meta-analysis. *Plast Reconstr Surg* 2013; 131 (3): 601–13.
34. Marqueling A.L., Oza V., Frieden I.J., Puttgen K.B. Propranolol and infantile hemangiomas four years later: a sys-

- tematic review. *Pediatr Dermatol* 2013; 30 (2): 182–91.
35. Peridis S., Pilgrim G., Athanasopoulos I., Parpounas K. A meta-analysis on the effectiveness of propranolol for the treatment of infantile airway haemangiomas. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2011; 75 (4): 455–60.
 36. Spiteri Cornish K., Reddy A.R. The use of propranolol in the management of periocular capillary haemangioma – a systematic review. *Eye (Lond)* 2011; 25 (10): 1277–83.
 37. Léauté-Labrèze C., Taïeb A. Efficacy of beta-blockers in infantile capillary haemangiomas: the physiopathological significance and therapeutic consequences. *Ann Dermatol Vénéréol* 2008; 135 (12): 860–2.
 38. Dai Y., Hou F., Buckmiller L., Fan C.Y., Saad A., Suen J., et al. Decreased eNOS protein expression in involuting and propranolol-treated hemangiomas. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2012; 138 (2): 177–82.
 39. Page C.P., Cyrtis M.J., Walker M., Hoffman B.B. Integrated Pharmacology. 3th Ed. 2012. Pp. 422–423.
 40. Lamy S., Lachambre M.P., Lord-Dufour S., Béliveau R. Propranolol suppresses angiogenesis in vitro: inhibition of proliferation, migration, and differentiation of endothelial cells. *Vascul Pharmacol* 2010; 53 (5–6): 200–8.
 41. Greenberger S., Bischoff J. Infantile hemangioma-mechanism(s) of drug action on a vascular tumor. *COLD Spring Harb Perspect Med* 2011; 1 (1): a006460. DOI: 10.1101/cshperspect.a006460
 42. Thaivalappil S., Bauman N., Saieg A., Movius E., Brown K.J., Preciado D. Propranolol-mediated attenuation of MMP-9 excretion in infants with hemangiomas. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 139 (10): 1026–31.
 43. Wrobel L.J., Boehncke W.-H., Le Gal F.-A. Bêtabloquants: un nouveau traitement dermatologique? *Rev Med Suisse* 2018; 14: 670–5.
 44. Blei F. Medical management of vascular anomalies. *Facial Plast Surg* 2012; 28 (6): 575–83.
 45. Lou Y., Peng W., Cao Y., Cao D., Xie J., Li H. The effectiveness of propranolol in treating infantile haemangiomas: a meta-analysis including 35 studies. *Br J Clin Pharmacol* 2014; 78 (1): 33–57.
 46. Malik M.A., Menon P., Rao K.L.N., Samujh R. Effect of propranolol vs propranolol with prednisolone in the management of infantile hemangioma: a randomized controlled study. *J Pediatr Surg* 2013; 48 (12): 2453–9.
 47. Marqueling A.L., Oza V., Frieden I.J., Puttgen K. B. Propranolol and infantile hemangiomas four years later: a systematic review. *Pediatr Dermatol* 2013; 30 (2): 182–91.
 48. Hoeger P.H., Harper J.I., Baselga E., Bonnet D., Boon L.M., Atti M.C.D., et al. Treatment of infantile haemangiomas: recommendations of a European expert group. *Eur J Pediatr* 2015; 174 (7): 855–65.
 49. Hoeger P.H., Harper J.I., Baselga E. Treatment of infantile haemangiomas: recommendations of a European expert group. *Eur J Pediatr* 2015; 174 (7): 855–65.
 50. Léauté Labrèze C., Hoeger P., Mazer-euw-Hautier J., Guibaud L., Baselga E., Posiunas G., et al. A randomized, controlled trial of oral propranolol in infantile hemangioma. *N Engl J Med* 2015; 372 (8): 735–46.
 51. Drolet B.A., Frommlet P.C., Chamlin S.L., Haggstrom A., Bauman N.M., Chiu Y.E., et al. Initiation and use of propranolol for infantile hemangioma: report of a consensus conference. *Pediatrics* 2013; 131 (1): 128–40.
 52. Biesbroeck L., Brandling-Bennett H.A. Propranolol for infantile haemangiomas: brief review of report of a consensus conference. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2014; 99 (3): 95–7.
 53. Bertrand J., McCuaig C., Dubois J., Hatami A., Ondrejchak S., Powell J. Propranolol versus prednisone in the treatment of infantile hemangiomas: a retrospective comparative study. *Pediatr Dermatol* 2011; 28 (6): 649–54.
 54. Price C.J., Lattouf C., Baum B., McLeod M., Schachner L.A., Duarte A.M., et al. Propranolol vs corticosteroids for infantile hemangiomas: a multicenter retrospective analysis. *Arch Dermatol* 2011; 147 (12): 1371–6.
 55. Talaat A.A., Elbasiouny M.S., Elgendy D.S., Elwakil T.F. Propranolol treatment of infantile hemangioma: clinical and radiologic evaluations. *J Pediatr Surg* 2012; 47 (4): 707–14.
 56. Zaher H., Rasheed H., Hegazy R.A., Hegazy R.A., Abdelhalim D.M., Gawdat H.I. Oral propranolol: an effective, safe treatment for infantile hemangiomas. *Eur J Dermatol* 2011; 21 (4): 558–63.
 57. Peridis S., Pilgrim G., Athanasopoulos I., Parpounas K. A meta-analysis on the effectiveness of propranolol for the treatment of infantile airway haemangiomas. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2011; 75 (4): 455–60.
 58. Spiteri Cornish K., Reddy A.R. The use of propranolol in the management of periocular capillary haemangioma—a systematic review. *Eye (Lond)* 2011; 25 (10): 1277–83.
 59. Vlastarakos P.V., Papacharalampous G.X., Chrysostomou M., Tavoulari E.F., Delidis A., Protopapas D., et al. Propranolol is an effective treatment for airway haemangiomas: a critical analysis and meta-analysis of published interventional studies. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2012; 32 (4): 213–21.
 60. Starkey E., Shahidullah H. Propranolol for infantile haemangiomas: a review. *Arch Dis Child* 2011; 96 (9): 890–3.
 61. Caussé S., Aubert H., Saint-Jean M., Puzenat E., Bursztejn A.-C., Eschard C., et al. Propranolol-resistant infantile haemangiomas. *Br J Dermatol* 2013; 169 (1): 125–9.
 62. Bayrat C.B., Tamburro J.L., Vidi-mos A.T., Wang L., Golden A.B. Atenolol versus propranolol for treatment of infantile hemangiomas During the proliferative phase: A Retrospective Noninferiority Study. *Pediatr Dermatol* 2017; 34: 413–21.
 63. Alexopoulos A., Thanopoulou I., Dakoutrou M., Georgiadou E., Chrousos G.P., Kakoutou T. Atenolol treatment for severe infantile hemangiomas: a single-centre prospective study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018; 32 (3): e117–9. DOI: 10.1111/jdv.14590
 64. Chan H., McKay C., Adams S., Wargon O. RCT of timolol maleate gel superficial infantile hemangiomas in 5-to 24-week-olds. *Pediatrics* 2013; 131: e1739–47.
 65. Khan M., Boyce A., Prieto-Merino A., Wedgeworth E., Flohr C. The role of topical Timolol in the treatment of infantile hemangiomas: A systematic review and meta-analysis. *Acta Derm Venereol* 2017; 97: 1167–71.

Резолюция Совета экспертов по вопросу применения препарата эмицизумаб у пациентов с гемофилией А

3 апреля 2021 г. в онлайн-режиме состоялся Экспертный совет по вопросу применения препарата эмицизумаб у пациентов с гемофилией А.

В совещании приняли участие следующие эксперты:

Андреева Татьяна Андреевна, канд. мед. наук, врач-гематолог высшей квалификационной категории, заведующая Городским центром по лечению больных гемофилией ГБУЗ «Городская поликлиника №37» (Санкт-Петербург)

Жарков Павел Александрович, д-р мед. наук, врач-гематолог консультативного отделения, руководитель группы изучения гемостаза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва)

Зозуля Надежда Ивановна, д-р мед. наук, заведующая отделом коагулопатий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва)

Зоренко Владимир Юрьевич, д-р мед. наук, профессор, заведующий травматолого-ортопедическим отделением ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва)

Константинова Валерия Николаевна, канд. мед. наук, врач-гематолог высшей квалификационной категории Городского центра по лечению гемофилии ГБУЗ «Городская поликлиника №37» (Санкт-Петербург)

Лебедев Владимир Вениаминович, канд. мед. наук, врач-детский онколог высшей квалификационной категории, главный внештатный детский онкогематолог Министерства здравоохранения Краснодарского края, заведующий отделением онкологии и гематологии с химиотерапией ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края (Краснодар)

Мамаев Андрей Николаевич, д-р мед. наук, врач-гематолог высшей квалификационной категории, старший научный сотрудник Алтайского филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Барнаул)

Маркова Инна Викторовна, канд. мед. наук, врач-гематолог, главный внештатный детский гематолог Ленинградской области, заместитель директора по связям с общественностью Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» (Санкт-Петербург)

Петров Виктор Юрьевич, д-р мед. наук, врач-гематолог высшей квалификационной категории отделения гематологии ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы» (Москва)

Полянская Татьяна Юрьевна, канд. мед. наук, старший научный сотрудник травматолого-ортопедического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва)

Румянцев Александр Григорьевич, академик РАН, д-р мед. наук, профессор, главный детский онколог-гематолог Министерства здравоохранения Российской Федерации, президент ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва)

Шиллер Екатерина Эдуардовна, врач-гематолог высшей квалификационной категории, главный внештатный гематолог Министерства здравоохранения Московской области, заведующая отделением детской гематологии ГБУЗ МО «Одинцовская областная больница» (Одинцово)

Лекарственный препарат эмицизумаб, являющийся миметиком фактора свертывания крови VIII (FVIII), был зарегистрирован в Российской Федерации 15.10.2018 для применения в качестве рутинной профилактики в целях предотвращения или снижения частоты кровотечений у пациентов с гемофилией А (наследственный дефицит FVIII) с ингибиторами к FVIII, а 11.12.2019 – и для больных с тяжелой формой гемофилии А (FVIII < 1%) без ингибиторов к FVIII.

В настоящее время более 10 000 пациентов в разных странах получают эмицизумаб в рамках рутинной клинической практики, из них более 50 больных в России.

С 1 января 2021 г. эмицизумаб включен в «Перечень лекарственных препаратов, предназначенных для обеспечения лиц, больных гемофилией, муковисцидозом, гипофизарным нанизмом, болезнью Гоше,

злокачественными новообразованиями лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей, рассеянным склерозом, гемолизико-уремическим синдромом, юношеским артритом с системным началом, мукополисахаридозом I, II и VI типов, лиц после трансплантации органов и (или) тканей».

Учитывая накопленный опыт применения, Советом экспертов была согласована возможность назначения эмицизумаба в соответствии с инструкцией по медицинскому применению препарата в том числе пациентам с неосложненной тяжелой формой гемофилии А, несмотря на отсутствие указаний на данный вид терапии в национальных рекомендациях.

Для всех пациентов, которые будут переведены на терапию эмицизумабом, необходимо:

1. Обязательное подтверждение тяжести заболевания с определением активности FVIII и наличия/отсутствия ингибитора к FVIII в одной из лабораторий

согласно Приложению. Давность выполнения данного исследования не должна превышать 1 год до перевода пациента на эмицизумаб.

2. Для пациентов с тяжелой формой гемофилии А без ингибиторов дополнительное обеспечение концентратами FVIII из расчета 10 введений в год в разовой дозе 50 МЕ/кг массы тела пациента.

3. Для больных с ингибиторной формой гемофилии А дополнительное обеспечение одним из препаратов шунтирующего действия (выбор препарата (по решению лечащего врача) должен быть основан на анамнестическом ответе пациента на терапию). Годовая потребность в препаратах шунтирующего действия на фоне терапии эмицизумабом определяется следующим образом: для эптаконга альфа (активированного) – из расчета 25 введений в дозе 90 мкг/кг массы тела; для антиингибиторного

коагулянтного комплекса – из расчета 15 введений в дозе 50 МЕ/кг массы тела. Недопустимо одновременное обеспечение двумя шунтирующими препаратами.

4. Для пациентов с установленными системами долгосрочного венозного доступа (порт-системы, центральный венозный катетер) рекомендуется их удаление не позднее чем через 1 месяц от начала терапии эмицизумабом при условии эффективного контроля заболевания.

5. Больные, переведенные на терапию эмицизумабом, обязаны проходить ежегодный контроль активности FVIII и наличия/отсутствия ингибитора к нему хромогенным методом.

Советом экспертов принято решение о необходимости актуализации национальных клинических рекомендаций.

Приложение

Центры по лечению пациентов с гемофилией:

- ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Адрес: 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, 1. Телефон: +7-495-287-65-81.

- ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России. Адрес: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4. Телефон: +7-495-612-29-12.

- ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы». Адрес: 119049, г. Москва, 4-й Добрынинский переулок, 1/9. Телефон: +7-495-653-15-87.

- Городской центр по лечению гемофилии ГБУЗ «Городская поликлиника №37». Адрес: 191186, г. Санкт-Петербург, ул. Гороховая, 6. Телефон: +7-812-315-48-71.

- ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства». Адрес: 191186,

г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16. Телефон: +7-812-274-56-50.

- Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России. Краевой центр патологии гемостаза. Адрес: 656024, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1. Телефон: +7-3852-68-98-80

- ГБУЗ МО «Одинцовская областная больница». Адрес: 143003, г. Одинцово, Бульвар Любы Новоселовой, 6. Телефон: + 7-495-599-44-87.

Правила оформления статей

1. Статья должна быть представлена в электронном виде (в отдельных файлах: текст статьи со списком литературы, таблицы, графики, рисунки, подписи к рисункам, резюме).

Все страницы пронумерованы.

Шрифт – Times New Roman, 14 пунктов, 1,5 интервала.

2. На 1-й странице: название статьи, инициалы и фамилии всех авторов, полное название учреждений, в которых выполнена работа, их полный адрес с индексом.

В конце статьи: контактные телефоны, рабочий адрес с указанием индекса, факс, адрес электронной почты и фамилия, имя, отчество, занимаемая должность, ученая степень, ученое звание авторов.

3. Объем статей: оригинальная – не более 12 стр.; описание наблюдений, заметки из практики – не более 5 стр.; обзор литературы – до 20 стр.

К статье должно быть приложено резюме на русском и английском языках: название статьи, фамилии и инициалами авторов, название учреждений, содержание работы; для оригинальных статей – структурированное резюме (введение, материалы и методы, результаты и т.д.). Объем резюме – до 1500 знаков с пробелами; количество ключевых слов – до 10.

4. Иллюстративный материал:

- фотографии должны быть контрастными; рисунки, графики и диаграммы – четкими;

- фотографии представляются в оригинале или электронном виде в формате TIFF, JPG, CMYK с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм);

- графики, схемы и рисунки – в формате EPS. Adobe Illustrator 7.0-10.0.

- Все рисунки должны быть пронумерованы и снабжены подрисуночными подписями на отдельном листе, фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита. Все сокращения и обозначения, использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подрисуночной подписи;

- все таблицы пронумерованы, иметь название; все сокращения расшифрованы в примечании к таблице;

- ссылки на таблицы, рисунки и др. иллюстративные материалы приводятся по тексту статьи в круглых скобках.

5. Единицы измерений даются в СИ.

Аббревиатуры в тексте полностью расшифрованы при первом употреблении. Использование необ-

щепринятых сокращений не допускается. Название генов пишется курсивом, название белков – обычным шрифтом.

6. Список цитируемой литературы:

- список ссылок в порядке цитирования; все источники пронумерованы, их нумерация должна строго соответствовать нумерации в тексте статьи;

- для каждого источника необходимо указать: фамилии и инициалы авторов (если авторов более 6, указывают первые 6, далее «и др.» в русском или «et al.» – в английском тексте);

- при ссылке на статьи из журналов указывают название статьи; журнала, год, том, номер выпуска, страницы;

- при ссылке на монографии указывают полное название книги, место издания, название издательства, год издания;

- при ссылке на авторефераты диссертаций – полное название работы, докторская или кандидатская, год и место издания;

- при ссылке на данные, полученные из Интернета, указывают электронный адрес цитируемого источника;

- все ссылки на литературные источники печатают арабскими цифрами в квадратных скобках: например [5];

- количество цитируемых работ: в оригинальных статьях желательно не более 20-25 источников, в обзорах литературы – не более 60.

7. Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

8. Все статьи, в том числе подготовленные аспирантами и соискателями ученой степени кандидата наук по результатам собственных исследований, принимаются к печати бесплатно, в порядке общей очереди.

Статьи, не соответствующие данным требованиям, к рассмотрению не принимаются.

Все поступающие статьи рецензируются.

Присланные материалы обратно не возвращаются.

Редакция оставляет за собой право на редактирование статей, представленных к публикации.

Электронная почта: journal@fnkc.ru