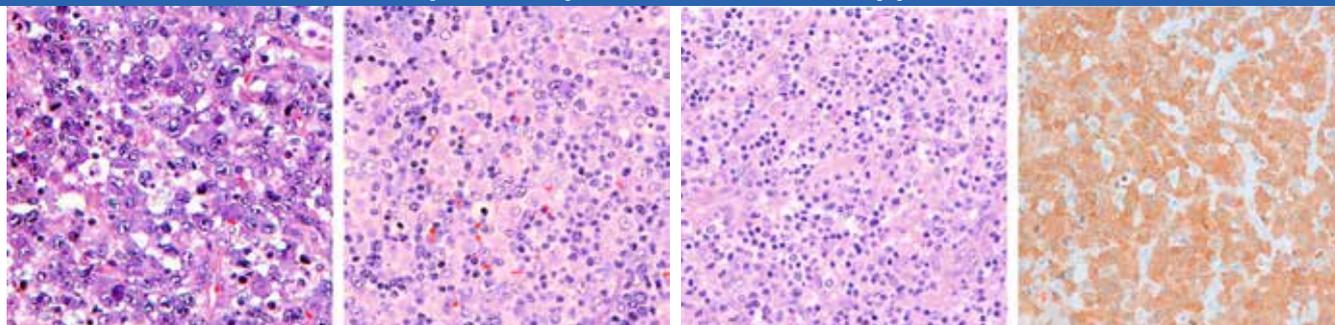


Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии

№ 1 | 23 | 2024

научно-практический журнал



Морфология и некоторые черты иммунофенотипа ALK-позитивной анапластической крупноклеточной лимфомы.
Из статьи Д.С. Абрамова и соавт., с. 180

14

Биспецифическое моноклональное антитело блинатумомаб в первой линии терапии В-линейной острой лимфобластной лейкемии у детей и подростков: промежуточные результаты апробационного протокола Министерства здравоохранения Российской Федерации

Bispecific monoclonal antibody blinatumomab in the first-line therapy of B-lineage acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: interim results of the Russian Ministry of Health approbation protocol

56

Прогностическое значение статуса гена *TP53* у детей с лимфомой Беркитта на протоколе В-НХЛ-2010М

The prognostic value of *TP53* mutational status in children with Burkitt lymphoma treated according to the B-NHL-2010M protocol

108

Переносимость и токсичность индукционной химиотерапии с динутуксимабом бета у первичных пациентов с нейробластомой группы высокого риска

Tolerability and toxicity of induction chemoimmunotherapy with dinutuximab beta in newly diagnosed patients with high-risk neuroblastoma

159

Терапия ингибиторами иммунных контрольных точек детей и подростков с рефрактерной/рецидивирующей лимфомой Ходжкина: серия клинических наблюдений

Immune checkpoint inhibitor therapy in children and adolescents with refractory/relapsed Hodgkin lymphoma: a case series



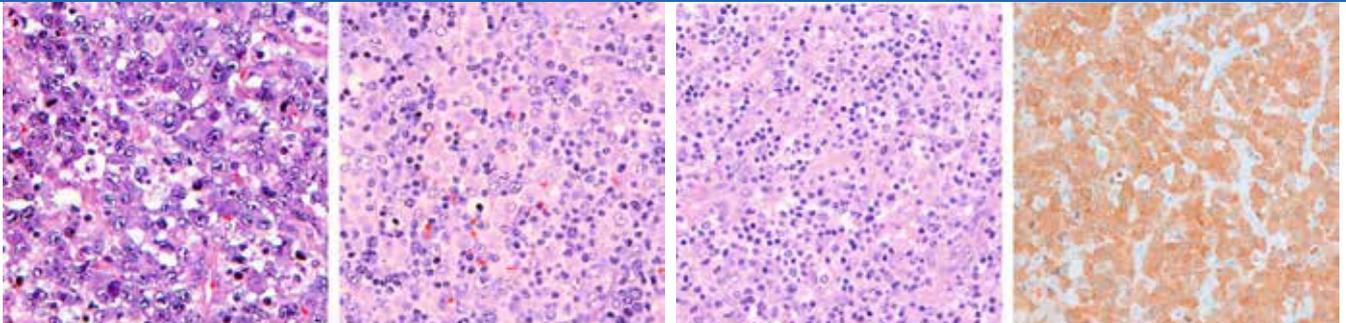
НАУКА —
ДЕТЯМ



Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology

№ 1 | 23 | 2024

scientific and practical journal



Morphologic and some immunophenotypic features of ALK-positive anaplastic large cell lymphoma.
From the article by D.S. Abramov et al., p. 180

14

Bispecific monoclonal antibody blinatumomab in the first-line therapy of B-lineage acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: interim results of the Russian Ministry of Health approbation protocol

56

The prognostic value of *TP53* mutational status in children with Burkitt lymphoma treated according to the B-NHL-2010M protocol

108

Tolerability and toxicity of induction chemoimmunotherapy with dinutuximab beta in newly diagnosed patients with high-risk neuroblastoma

159

Immune checkpoint inhibitor therapy in children and adolescents with refractory/relapsed Hodgkin lymphoma: a case series



НАУКА —
ДЕТЯМ



A peer-reviewed open-access journal, is published 4 times a year by the Science for Children Foundation for Support and Development in Pediatric Hematology, Oncology and Immunology 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.

Subject area and/or specialty

An educational medium. An informational research and clinical medical journal featuring original research articles, literature reviews, lectures on relevant topics of pediatric hematology, oncology and immunopathology, and advertisements published in accordance with the Advertising Law of the Russian Federation.

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: 9982222@gmail.com

Commercial Reprints

For commercial reprints, please contact us via e-mail: 9982222@gmail.com

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 © 2024 by «Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» («D. Rogachev NMRCPHO»). 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*:
17 Vereyskaya St., Room 311–1, Moscow 121357, Russia

For further information on rights and permissions, please contact us via e-mail: 9982222@gmail.com

Рецензируемый журнал с открытым доступом, издается 4 раза в год фондом поддержки и развития в области детской гематологии, онкологии и иммунологии «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.

Примерная тематика и (или) специализация

Образовательное СМИ. Информационный научно-практический медицинский журнал, публикующий оригинальные исследования, обзоры литературы, лекции, посвященные актуальным вопросам детской гематологии, онкологии и иммунопатологии, рекламу в соответствии с законодательством Российской Федерации о рекламе.

Подача рукописей

Прислать рукопись можно по ссылке: http://www.hemoncim.com/authors_en.html. Ознакомиться 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: 9982222@gmail.com

Репринт

По вопросам репринта обращайтесь в редакцию. E-mail: 9982222@gmail.com

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

© 2024 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, 121357, Москва, ул. Верейская, 17, пом. 311, комната 1

Для получения более подробной информации, касающейся авторских прав и разрешений, просим связаться с нами по электронной почте: 9982222@gmail.com

Founders

D. Rogachev NMRCPHO,
Science for Children Foundation for Support and Development in Pediatric Hematology, Oncology and Immunology.

Editorial office

Editor-in-Chief – G.A. Novichkova
Address: 17 Vereyskaya St., Room 311–1, Moscow 121357
Tel.: +7 (495) 287-65-70, ext. 5546
www.hemoncim.com
E-mail: journal@fnkc.ru
Advertising department: +7 (495) 211-04-82

The Journal is registered in the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media. Registration number is ПИ № ФС77–85163 от 27.04.2023. The journal was founded in 2002. It is published in Russian and English. Distribution area: the Russian Federation, foreign countries.

Publisher

LLC «Science and education».
Address: 28 Podsosenskiy Lane, Bldg. 1, Moscow 101000

Printing office

LLC «Genius-Print».
Address: 3 Bldg. 19, Amurskaya St. Room 1, Moscow 107497

Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2024
Vol. 23. No.1. Date of publication 25.03.2024
The circulation is 3000 copies. The price is free.

Учредители

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, фонд поддержки и развития в области детской гематологии, онкологии и иммунологии «Наука – детям».

Редакция журнала

Главный редактор – Г.А. Новичкова
Адрес: 121357, Москва, ул. Верейская, 17, пом. 311, комната 1
Тел.: +7 (495) 287-65-70, доб. 5546
www.hemoncim.com
E-mail: journal@fnkc.ru
По вопросам рекламы: +7 (495) 211-04-82

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Регистрационный номер ПИ № ФС77–85163 от 27.04.2023. Журнал основан в 2002 году. Языки издания: русский, английский. Территория распространения: Российская Федерация, зарубежные страны.

Издатель

ООО «Наука и образование».
Адрес: 101000, Москва, Подсосенский пер., 28, стр. 1

Типография

ООО «Джениус-принт».
Адрес: 107497, Москва, ул. Амурская, 3, стр. 19, помещение 1

Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2024.
Том 23. №1. Дата выхода 25.03.2024
Тираж 3000 экз. Цена свободная.

ВОПРОСЫ ГЕМАТОЛОГИИ/ОНКОЛОГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ В ПЕДИАТРИИ

Научно-практический журнал

№ 1 | том 23 | 2024



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

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

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, Чиба, Япония

Окс Г.
профессор, Сиэтл, 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

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

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

Kryzhanovskiy 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

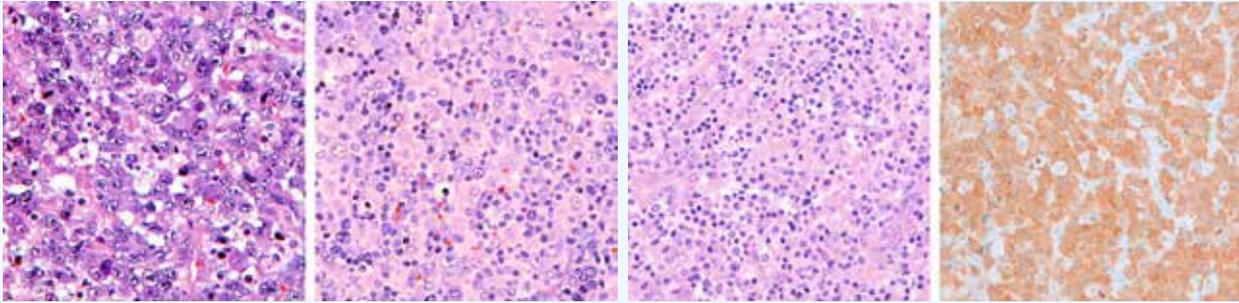
Henze G.
Professor, Berlin, Germany

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

Содержание

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 2024, 23 (1)

Оформление обложки:



Морфология и некоторые черты иммунофенотипа ALK-позитивной анапластической крупноклеточной лимфомы.

Из статьи Д.С. Абрамова и соавт., с. 180

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Биспецифическое моноклональное антитело блинатумомаб в первой линии терапии В-линейной острой лимфобластной лейкемии у детей и подростков: промежуточные результаты апробационного протокола Министерства здравоохранения Российской Федерации 14

А.И. Карачунский, Ю.В. Румянцева, Л.И. Жарикова, О.И. Быданов, С.Н. Лагойко, А.М. Попов, Е.В. Михайлова, Ю.В. Ольшанская, Е.А. Зеркаленкова, Н.В. Мякова, Д.В. Литвинов, М.И. Абу-Джабал, Л.А. Хачатрян, А.В. Пшонкин, Н.И. Пономарева, Ю.В. Диникина, Т.Т. Валиев, С.Р. Варфоломеева, Г.А. Новичкова

Влияние иммуноархитектурных паттернов на клиническую презентацию и ответ на проводимую терапию у детей при нодулярной лимфоме Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием 25

М.А. Сенченко, Д.С. Абрамов, Н.В. Мякова, Д.М. Коновалов

Результаты исследования эффективности и безопасности применения вемурафениба в сочетании с комбинированной терапией цитарабином/2-хлор-2'-дезоксиаденозином у пациентов с гистиоцитозом из клеток Лангерганса с наличием мутации V600E гена *BRAF* 37

Э.И. Людовских, Д.А. Евсеев, Д.С. Осипова, Е.В. Райкина, И.И. Калинина, Д.Д. Байдильдина, А.М. Попов, Е.А. Бурцев, Г.О. Бронин, О.С. Финк, Б.Б. Пурбуева, Е.А. Пристанскова, А.А. Масчан, М.А. Масчан

- Визуальная и количественная оценка промежуточной позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой у детей с лимфомой Ходжкина** 45
М.М. Дунайкин, Г.И. Шестопалов, М.Я. Ядгаров, Ч. Кайлаш, Е.Д. Киреева, Н.В. Мякова, Ю.Н. Ликарь
- Прогностическое значение статуса гена *TP53* у детей с лимфомой Беркитта на протоколе В-НХЛ-2010М** 56
Е.В. Волчков, Ю.Г. Абугова, К.Р. Бреннинг, Д.С. Абрамов, В.В. Фоминых, М.А. Сенченко, Л.Х. Чугаева, Ю.В. Ольшанская, Г.А. Новичкова, Н.В. Мякова
- Применение блинатумаба у детей с первичным Rh-негативным В-линейным острым лимфобластным лейкозом и медленным клиренсом минимальной остаточной болезни** 63
А.М. Попов, Ю.В. Румянцева, Е.В. Михайлова, О.И. Быданов, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская, Т.Ю. Вержбицкая, Ж.В. Пермикин, Г.А. Цаур, С.Н. Лагойко, Л.И. Жарикова, Н.В. Мякова, Н.И. Пономарева, Э.Г. Бойченко, Л.Г. Фечина, Г.А. Новичкова, А.И. Карачунский
- Цитометрическое и цитоморфологическое определение достижения ремиссии у детей с острым миелоидным лейкозом** 73
Е.В. Михайлова, А.Н. Дагестани, С.А. Кашпор, С.А. Плясунова, Т.В. Конюхова, М.Э. Дубровина, К.А. Воронин, И.И. Калинина, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская, А.В. Попа, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова, А.М. Попов
- Фармакокинетические параметры применения симоктокога альфа у детей с гемофилией А без ингибиторов в реальной клинической практике** 86
П.А. Жарков, Д.Б. Флоринский, Е.Э. Шиллер
- Влияние температуры на тромбоцитарный гемостаз, индуцированный различными агонистами** 92
И.А. Добрылко, А.А. Волкова, Б.А. Герда, Д.М. Михайлова, С.П. Гамбарян, И.В. Миндукшев
- Статистически значимое улучшение контроля гемофилии А: ретроспективный анализ эффективности и безопасности эмицизумаба у детей с тяжелой и ингибиторной формой гемофилии А** 99
В.Ю. Петров, И.Н. Лаврентьева, В.В. Вдовин, П.В. Свириг

Переносимость и токсичность индукционной химиоиммунотерапии с динутуксимабом бета у первичных пациентов с нейробластомой группы высокого риска 108

Т.В. Шаманская, Д.Ю. Качанов, Н.С. Иванов, Л.Л. Рабаева, М.Я. Ядгаров, О.С. Зацаринная, Д.Т. Уталиева, Д.В. Литвинов, А.Г. Румянцев, Г.А. Новичкова

Цитокиновый профиль кала недоношенных новорожденных в диагностике некротизирующего энтероколита: результаты пилотного исследования 119

Е.Е. Костерина, Е.Н. Балашова, А.М. Красный, А.Р. Киртбая, А.А. Рудакова, А.А. Садекова, В.В. Вторушина, Л.В. Кречетова, О.В. Ионов

Возрастная динамика показателей клеточного иммунитета, активность внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов и функциональная активность нейтрофилов у детей с болезнью Гоше 128

О.В. Курбатова, Г.Б. Мовсисян, М.В. Коняшин, С.В. Петричук, Д.Г. Купцова, Т.В. Радыгина, Е.Л. Семикина, А.С. Потапов, А.П. Фисенко

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Приапизм в дебюте острого лимфобластного лейкоза у ребенка 12 лет 139

А.Д. Инёшина, А.С. Капустина, А.Ю. Смирнова, Е.А. Гринь, Г.Г. Бараташвили, И.М. Каганцов, Ю.В. Диникина

Triosephosphate isomerase deficiency in a Tunisian case series 146

Elleuch Amal, Bouzid Sirine, Boujelben Imen, Maalej Bayen, Taieb Messaoudi, Kammoun Hassen, Safi Faiza

Diagnosis and management of myelodysplastic syndrome in a Fanconi anemia patient 149

Arash Alghasi, Homayon Yousefi, Reza Khedri, Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani

Случай массивного кровотечения из артериоинтестинальной фистулы у ребенка с острым миелоидным лейкозом 153

С.С. Гусев, Г.И. Гиро, В.В. Громова, К.С. Антонова, Г.С. Рабаев, Д.Г. Ахаладзе, А.Ю. Иванашкин, И.Г. Хамин

Терапия ингибиторами иммунных контрольных точек детей и подростков с рефрактерной/ рецидивирующей лимфомой Ходжкина: серия клинических наблюдений 159

Е.А. Тузова, Д.А. Евстратов, А.В. Пшонкин, М.Н. Корсантия, И.В. Фисюн, Д.В. Литвинов, Н.В. Мякова

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

- Экстракорпоральная мембранная оксигенация у детей с онкогематологическими заболеваниями** 165
Е.А. Рядинская, А.Ю. Иванашкин, А.С. Рыбалко, В.В. Лазарев, И.А. Крюков, А.А. Павленко, Д.Н. Арзин
- Молекулярный патогенез Т-лимфобластной лимфомы** 172
В.Р. Днепровский, А.С. Федорова, Д.С. Абрамов, Е.В. Волчков, Н.В. Мякова
- Современные представления об этиологии и патогенезе ALK-позитивной анапластической крупноклеточной лимфомы** 180
Д.С. Абрамов, А.С. Федорова, Е.В. Волчков, Н.В. Мякова, Д.М. Коновалов
- Особенности клинического течения и терапии гемофилии В** 192
Н.И. Зозуля, Т.А. Андреева, П.А. Жарков, В.В. Вдовин
- Современные аспекты диагностики гемофилии А** 200
А.В. Полетаев, Е.А. Серёгина, П.А. Жарков
- Условия реализации феномена запрограммированной гибели нейтрофилов с появлением внеклеточных ДНК-ловушек при тромбообразовании** 211
А.Н. Свешникова, Е.А. Адаманская, М.А. Пантелеев

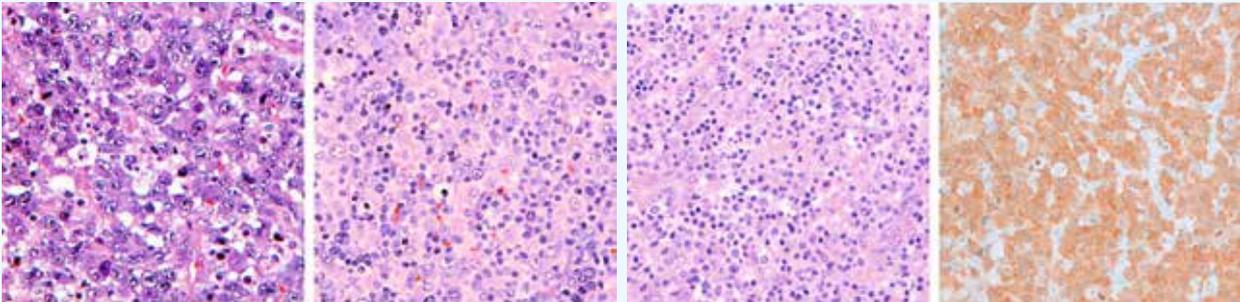
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- Имунофенотипирование в диагностике острых лейкозов неоднозначной линейности. Результаты централизованной диагностики и практические рекомендации** 219
И.А. Дёмина, Е.В. Михайлова, А.А. Семченкова, Т.Ю. Вержбицкая, Ж.В. Пермикин, С.А. Кашпор, Е.А. Зеркаленкова, Г.А. Цаур, Ю.В. Ольшанская, Л.Г. Фечина, А.И. Карачунский, Г.А. Новичкова, А.М. Попов

Content

© 2024 «D. Rogachev NMRCPhO», 2024, 23 (1)

Cover design:



Morphologic and some immunophenotypic features of ALK-positive anaplastic large cell lymphoma.
From the article by D.S. Abramov et al., p. 180

ORIGINAL ARTICLE

- Bispecific monoclonal antibody blinatumomab in the first-line therapy of B-lineage acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: interim results of the Russian Ministry of Health approbation protocol** 14
A.I. Karachunskiy, Yu.V. Rumyantseva, L.I. Zharikova, O.I. Bydanov, S.N. Lagoyko, A.M. Popov, E.V. Mikhailova, Yu.V. Olshanskaya, E.A. Zerkalenkova, N.V. Myakova, D.V. Litvinov, M.I. Abu-Dzhabal, L.A. Khachatryan, A.V. Pshonkin, N.I. Ponomareva, Yu.V. Dinikina, T.T. Valiev, S.R. Varfolomeeva, G.A. Novichkova
- The impact of immunoarchitectural patterns on clinical presentation and response to therapy in children with nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma** 25
M.A. Senchenko, D.S. Abramov, N.V. Myakova, D.M. Konovalov
- The results of a study on the effectiveness and safety of treatment with vemurafenib and cytarabine/2-chloro-2'-deoxyadenosine combination in patients with Langerhans cell histiocytosis with *BRAFV600E* mutation** 37
E.I. Lyudovskikh, D.A. Yevseyev, D.S. Osipova, E.V. Raykina, I.I. Kalinina, D.D. Baydildina, A.M. Popov, E.A. Burtsev, G.O. Bronin, O.S. Fink, B.B. Purbuyeva, E.A. Pristanskova, A.A. Maschan, M.A. Maschan
- Visual and quantitative assessment of interim ¹⁸F-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography in children with Hodgkin lymphoma** 45
M.M. Dunaikin, G.I. Shestopalov, M.Ya. Yadgarov, Ch. Kailash, E.D. Kireeva, N.V. Myakova, Yu.N. Likar
- The prognostic value of *TP53* mutational status in children with Burkitt lymphoma treated according to the B-NHL-2010M protocol** 56
E.V. Volchkov, Yu.G. Abugova, K.R. Brenning, D.S. Abramov, V.V. Fominykh, M.A. Senchenko, L.Kh. Chugaeva, Yu.V. Olshanskaya, G.A. Novichkova, N.V. Myakova

- The use of blinatumomab in children with *de novo* Ph-negative B-lineage acute lymphoblastic leukemia and slow clearance of minimal residual disease** 63
A.M. Popov, Yu.V. Rumyantseva, E.V. Mikhailova, O.I. Bydanov, E.A. Zerkalenkova, Yu.V. Olshanskaya, T.Yu. Verzhbitskaya, Zh.V. Permikin, G.A. Tsaur, S.N. Lagoyko, L.I. Zharikova, N.V. Myakova, N.I. Ponomareva, E.G. Boychenko, L.G. Fechina, G.A. Novichkova, A.I. Karachunskiy
- Flow cytometric and cytomorphological definition of remission achievement in children with acute myeloid leukemia** 73
E.V. Mikhailova, A.N. Dagestani, S.A. Kashpor, S.A. Plyasunova, T.V. Konyukhova, M.E. Dubrovina, K.A. Voronin, I.I. Kalinina, E.A. Zerkalenkova, Yu.V. Olshanskaya, A.V. Popa, A.A. Maschan, G.A. Novichkova, A.M. Popov
- Pharmacokinetic parameters of simoctocog alfa in children with hemophilia A without inhibitors in real clinical practice** 86
P.A. Zharkov, D.B. Florinskiy, E.E. Shiller
- The influence of temperature on platelet hemostasis induced by various agonists** 92
I.A. Dobrylko, A.A. Volkova, B.A. Gerda, D.M. Mikhailova, S.P. Gambaryan, I.V. Mindukshev
- Statistically significant improvement in hemophilia A control: a retrospective analysis of the effectiveness and safety of emicizumab in children with severe and inhibitor forms of hemophilia A** 99
V.Yu. Petrov, I.N. Lavrentyeva, V.V. Vdovin, P.V. Svirin
- Tolerability and toxicity of induction chemoimmunotherapy with dinutuximab beta in newly diagnosed patients with high-risk neuroblastoma** 108
T.V. Shamanskaya, D.Yu. Kachanov, N.S. Ivanov, L.L. Rabaeva, M.Ya. Yadgarov, O.S. Zatsarinnaya, D.T. Utalieva, D.V. Litvinov, A.G. Rumyantsev, G.A. Novichkova
- Fecal cytokine profile in preterm infants in the diagnosis of necrotizing enterocolitis: pilot study results** 119
E.E. Kosterina, E.N. Balashova, A.M. Krasnyi, A.R. Kirtbaya, A.A. Rudakova, A.A. Sadekova, V.V. Vtorushina, L.V. Krechetova, O.V. Ionov
- Age-related changes in the parameters of cellular immunity, the activity of intracellular lymphocyte dehydrogenases and functional activity of neutrophils in children with Gaucher disease** 128
O.V. Kurbatova, G.B. Movsisyan, M.V. Konyashin, S.V. Petrichuk, D.G. Kuptsova, T.V. Radygina, E.L. Semikina, A.S. Potapov, A.P. Fisenko

CLINICAL OBSERVATION

- Priapism at the onset of acute lymphoblastic leukemia in a 12-year-old child** 139
A.D. Inyoshina, A.S. Kapustina, A.Yu. Smirnova, E.A. Grin, G.G. Baratashvili, I.M. Kagantsov, Yu.V. Dinikina
- Triosephosphate isomerase deficiency in a Tunisian case series** 146
Elleuch Amal, Bouzid Sirine, Boujelben Imen, Maalej Bayen, Taieb Messaoudi, Kammoun Hassen, Safi Faiza

Diagnosis and management of myelodysplastic syndrome in a Fanconi anemia patient 149

Arash Alghasi, Homayon Yousefi, Reza Khedri, Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani

A case report of massive bleeding from an arterio-intestinal fistula in a child with acute myeloid leukemia 153

S.S. Gusev, G.I. Giro, V.V. Gromova, C.S. Antonova, G.S. Rabaev, D.G. Akhaladze, A.Yu. Ivanashkin, I.G. Khamin

Immune checkpoint inhibitor therapy in children and adolescents with refractory/relapsed Hodgkin lymphoma: a case series 159

E.A. Tuzova, D.A. Evstratov, A.V. Pshonkin, M.N. Korsantiya, I.V. Fisyun, D.V. Litvinov, N.V. Myakova

LITERATURE REVIEW

Extracorporeal membrane oxygenation in children with oncohematological diseases 165

E.A. Ryadinskaya, A.Yu. Ivanashkin, A.S. Rybalko, V.V. Lazarev, I.A. Kryukov, A.A. Pavlenko, D.N. Arzin

Molecular pathogenesis of T-lymphoblastic lymphoma 172

V.R. Dneprovskii, A.S. Fedorova, D.S. Abramov, E.V. Volchkov, N.V. Myakova

Current views on the etiology and pathogenesis of ALK-positive anaplastic large cell lymphoma 180

D.S. Abramov, A.S. Fedorova, E.V. Volchkov, N.V. Myakova, D.M. Kononov

Clinical features and treatment of hemophilia B 192

N.I. Zozulya, T.A. Andreeva, P.A. Zharkov, V.V. Vdovin

Modern aspects of hemophilia A diagnosis 200

A.V. Poletaev, E.A. Seregina, P.A. Zharkov

Conditions for the implementation of the phenomenon of programmed death of neutrophils with the appearance of DNA extracellular traps during thrombus formation 211

A.N. Sveshnikova, E.A. Adamanskaya, M.A. Panteleev

DIAGNOSTIC GUIDELINES

Immunophenotyping in the diagnosis of acute leukemias of ambiguous lineage. The results of centralized diagnosis and practical guidelines 219

I.A. Demina, E.V. Mikhailova, A.A. Semchenkova, T.Yu. Verzhbitskaya, Zh.V. Permikin, S.A. Kashpor, E.A. Zerkalenkova, G.A. Tsaur, Yu.V. Olshanskaya, L.G. Fechina, A.I. Karachunskiy, G.A. Novichkova, A.M. Popov

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 14.02.2024
Принята к печати 06.03.2024



EDN: ATNNHN

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-14-24

Биспецифическое моноклональное антитело блинатумомаб в первой линии терапии В-линейной острой лимфобластной лейкемии у детей и подростков: промежуточные результаты апробационного протокола Министерства здравоохранения Российской Федерации

А.И. Карачунский^{1,2}, Ю.В. Румянцева^{1,2}, Л.И. Жарикова^{1,2}, О.И. Быданов¹, С.Н. Лагойко¹, А.М. Попов¹, Е.В. Михайлова¹, Ю.В. Ольшанская¹, Е.А. Зеркаленкова¹, Н.В. Мякова¹, Д.В. Литвинов^{1,2}, М.И. Абу-Джабал¹, Л.А. Хачатрян¹, А.В. Пшонкин¹, Н.И. Пономарева³, Ю.В. Диникина⁴, Т.Т. Валиев⁵, С.Р. Варфоломеева⁵, Г.А. Новичкова¹

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

²ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³Российская детская клиническая больница – филиал ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

⁵Научно-исследовательский институт детской онкологии и гематологии им. акад. РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Биспецифическое моноклональное антитело блинатумомаб (CD19/CD3) широко и успешно используется для лечения детей с рецидивирующей или рефрактерной В-линейной острой лимфобластной лейкемией (ВП-ОЛЛ). Достигнутые успехи также привели к использованию иммунотерапии у детей с первичной ВП-ОЛЛ. В данной работе представлена эффективность одного курса блинатумомаба вместо консолидирующей химиотерапии и с редукцией длительности поддерживающей терапии у пациентов с первично диагностированной ВП-ОЛЛ. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В период с февраля 2020 г. по ноябрь 2022 г. 165 детей с ВП-ОЛЛ стандартного и промежуточного риска (в соответствии с критериями клинической стратификации, определенными в исследовании) были включены в пилотное исследование ALL-MB 2019 (NCT04723342). Пациенты получали обычную риск-адаптированную индукционную терапию в соответствии с протоколом ALL-MB 2015. Больные, достигшие полной морфологической ремиссии в конце индукционной терапии, получали блинатумомаб в дозе 15 мкг/м²/сут сразу после индукции в течение 4 нед с последующей стандартной поддерживающей терапией в течение 12 мес. Минимальную остаточную болезнь (МОБ) измеряли с использованием многоцветной проточной цитометрии в конце индукции, затем сразу после лечения блинатумомабом и 4 раза во время поддерживающей терапии с 3-месячными интервалами. Все 165 пациентов успешно завершили индукционную терапию и достигли полной гематологической ремиссии. У всех в конце индукции была измерена МОБ. МОБ-негативными были 136 (82,2%) пациентов, а у остальных 29 больных выявлялась МОБ различного уровня позитивности. После завершения курса блинатумомаба МОБ была исследована у 164 больных. У 1 пациента курс блинатумомаба был прерван из-за острой нейротоксичности, и в дальнейшем он получал лечение в соответствии с терапевтическим планом для группы промежуточного риска протокола ALL-MB 2015. Все кроме 1 пациента достигли МОБ-негативности после курса блинатумомаба независимо от величины МОБ в конце индукции. Одна девочка-подросток с исходно высокой МОБ в конце индукции оставалась МОБ-позитивной и далее получала терапию согласно плану для группы высокого риска с аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. На момент анализа 162 пациента завершили всю терапию, включая 12 мес поддерживающей терапии. МОБ на момент окончания терапии исследовали у 151/162 пациента, все были МОБ-негативны. За 4 года исследования с медианой наблюдения 2,5 года было зарегистрировано 10 рецидивов: 4 в группе стандартного риска и 6 в группе промежуточного риска. Четырехлетняя бессобытийная выживаемость составила 89,1 ± 3,7% для всех больных, 92,0 ± 4,2% и 82,8 ± 8,1% для групп стандартного и промежуточного риска соответственно. На момент анализа все пациенты живы, ни одного случая летальности зафиксировано не было. Хотя представленные результаты являются предварительными и требуется больше времени для окончательных выводов, тем не менее лечение

Контактная информация:

Карачунский Александр Исаакович,
д-р мед. наук, профессор, заместитель
генерального директора –
директор Института онкологии, радиологии
и ядерной медицины ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: aikarat@mail.ru

блинатумомабом в дозе 15 мкг/м²/сут в течение 4 нед сразу после индукции с последующей 12-месячной поддерживающей терапией эффективно для достижения и поддержания МОБ негативности у детей с ВП-ОЛЛ стандартного и промежуточного риска. Кроме того, данное исследование показало принципиальную возможность редукции химиотерапии у детей с ОЛЛ путем комбинации с иммунотерапией биспецифическим моноклональным антителом блинатумомаб.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, блинатумомаб, минимальная остаточная болезнь, лечение сниженной интенсивности

Карачунский А.И. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 14–24. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-14-24

Bisppecific monoclonal antibody blinatumomab in the first-line therapy of B-lineage acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: interim results of the Russian Ministry of Health approbation protocol

A.I. Karachunskiy^{1,2}, Yu.V. Rumyantseva^{1,2}, L.I. Zharikova^{1,2}, O.I. Bydanov¹, S.N. Lagoyko¹, A.M. Popov¹, E.V. Mikhailova¹, Yu.V. Olshanskaya¹, E.A. Zerkalnikova¹, N.V. Myakova¹, D.V. Litvinov^{1,2}, M.I. Abu-Dzhabal¹, L.A. Khachatryan¹, A.V. Pshonkin¹, N.I. Ponomareva³, Yu.V. Dinikina⁴, T.T. Valiev⁵, S.R. Varfolomeeva⁵, G.A. Novichkova¹

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

²The N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

³Russian Children's Clinical Hospital – branch of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

⁴The V.A. Almazov National Medical Research Centre of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

⁵The L.A. Durnov Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology, the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

The bisppecific monoclonal antibody blinatumomab (CD19/CD3) is widely and successfully used to treat children with relapsed/refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL). Advances have also led to the use of immunotherapy in children with primary BCP-ALL. This paper presents the effectiveness of a single blinatumomab course instead of consolidation chemotherapy and with short maintenance therapy in primary BCP-ALL patients. 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. Between February 2020 and November 2022, 165 children with non-high-risk BCP-ALL (according to clinical stratification criteria defined in the study) were enrolled in the ALL-MB 2019 pilot study (NCT04723342). Patients received conventional risk-adapted induction therapy according to the ALL-MB 2015 protocol. Those who achieved complete morphological remission at the end of induction received 15 µg/m²/day of blinatumomab immediately after induction for 4 weeks, followed by 12 months of maintenance therapy. Minimal residual disease (MRD) was measured using multicolor flow cytometry at the end of induction, then immediately after blinatumomab course, and then four times during maintenance therapy at three-month intervals. All 165 patients successfully completed induction therapy and achieved complete hematological remission. All had their MRD measured at the end of induction. One hundred thirty-six (82.2%) patients were MRD-negative, and the remaining 29 patients showed various levels of MRD positivity. MRD was assessed in all 164 patients who completed the blinatumomab course. One patient had blinatumomab discontinued due to acute neurotoxicity and was subsequently treated according to the intermediate-risk ALL-MB 2015 protocol. All but one patient achieved MRD negativity after blinatumomab course, regardless of MRD value at the end of induction. One adolescent girl with a high MRD level after induction remained MRD positive after blinatumomab course and further received high-risk therapy with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. At the time of analysis, 162 children had completed all therapy, including 12 months of maintenance. MRD was examined in 151 of them, and all were MRD negative. Over a 4-year study period with a median follow-up of 2.5 years, 10 relapses were registered: 4 in the standard-risk group and 6 in the intermediate-risk group. The 4-year event-free survival was 89.1 ± 3.7% for all patients, 92.0 ± 4.2% and 82.8 ± 8.1% for the standard and intermediate risk groups, respectively. At the time of analysis, all patients were alive; no deaths were registered. Although the presented results are preliminary and more time is needed for definitive conclusions, a 4-week 15 µg/m²/day blinatumomab course immediately after induction followed by 12 months of maintenance therapy is effective in achieving and maintaining MRD negativity in children with non-high risk BCP-ALL. This study showed the fundamental possibility of treating ALL by combining immunotherapy with the bisppecific monoclonal antibody blinatumomab with a significant chemotherapy reduction.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, children, blinatumomab, minimal residual disease, reduced-intensity treatment

Karachunskiy A.I., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 14–24.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-14-24

Острая лимфобластная лейкемия (ОЛЛ) является самой частой злокачественной опухолью детского возраста, которая встречается с частотой 3 случая на 100 000 детского населения в год (примерно 1200 новых случаев ОЛЛ в год в Российской Федерации). По иммунофенотипу выделяют 2 основные формы ОЛЛ: из предшественников В-лимфоцитов (ВП-ОЛЛ) и из предшественников Т-лимфоцитов (Т-ОЛЛ). У 90% детей с ОЛЛ встречается ВП-ОЛЛ, в то время как Т-ОЛЛ – всего в 10% [1, 2].

Эволюция лечения ОЛЛ у детей на протяжении многих лет шла по пути интенсификации химиотерапии. В конечном итоге ОЛЛ у детей и подростков перешла из разряда инкурабельных в потенциально

излечимые заболевания с вероятностью выздоровления, превышающей 80% [3–7]. Однако современная химиотерапия ОЛЛ достигла своего максимума и ассоциирована с высокой токсичностью [8–10].

Новые возможности в лечении ВП-ОЛЛ у детей и подростков появились в связи с созданием инновационного препарата для иммунотерапии блинатумомаб [11]. Он одобрен для детей с рецидивирующими или рефрактерными вариантами ВП ОЛЛ [12, 13]. В исследованиях у больных с рецидивами и рефрактерными формами ВП-ОЛЛ препарат оказался чрезвычайно эффективным, позволяя достичь ремиссии там, где химиотерапия оказывалась безуспешной. У этих пациентов блинатумомаб часто используется

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 14.02.2024

Accepted 06.03.2024

Correspondence:

Alexander I. Karachunskiy,
Dr. Med. Sci., Professor, Deputy Director
General, Director of the Institute of Oncology,
Radiology and Nuclear Medicine of the Dmitry
Rogachev National Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology of Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: aikarat@mail.ru

в качестве «мостика» перед трансплантацией костного мозга (ТКМ) для элиминации минимальной остаточной болезни (МОБ) [11, 14]. Заметный успех был также достигнут при использовании иммунотерапии у детей с первичным ВП-ОЛЛ [15, 16]. У первичных пациентов препарат используется в качестве дополнительного элемента лечения для детей с медленным ответом на терапию (МОБ-позитивная ремиссия в конце индукции) или с определенными неблагоприятными клиническими характеристиками (например, с перестройками *KMT2A*) с последующей ТКМ или без нее [15, 16]. Другим применением CD19-направленной терапии в первой линии является снижение интенсивности и токсичности лечения путем замены интенсивных курсов химиотерапии иммунотерапией, в частности у пациентов с пониженной толерантностью к цитостатикам (например, у детей с синдромом Дауна) [15]. С этой точки зрения имеет смысл использовать иммунотерапию также у детей с ВП-ОЛЛ в первой линии, чтобы снизить острую токсичность, а также долгосрочные побочные эффекты.

К 2019 г. блинатумомаб был официально зарегистрирован в Российской Федерации для лечения рецидивов и рефрактерных случаев ВП-ОЛЛ и включен в список жизненно необходимых лекарственных препаратов. На основе анализа результатов многочисленных международных мультицентровых исследований по лечению ОЛЛ и собственного опыта группы «Москва–Берлин» был создан принципиально новый протокол лечения ВП-ОЛЛ для первичных больных, в котором раннее применение блинатумомаба непосредственно после индукции ремиссии комбинировалось со значительной редукцией химиотерапии и сокращением сроков лечения. Пилотное научное исследование по применению блинатумомаба у детей с ВП-ОЛЛ в первой линии терапии непосредственно после индукции ремиссии в формате апробации было анонсировано НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и поддержано Министерством здравоохранения Российской Федерации. Проект стартовал в феврале 2020 г., последний больной был включен в пилотный проект в ноябре 2022 г. В настоящей работе приводятся промежуточные результаты данного исследования. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты

В исследование были включены пациенты, соответствующие следующим критериям:

- диагноз ВП-ОЛЛ, подтвержденный в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, с наличием тотальной экспрессии CD19 на опухолевых клетках;

- возраст от 1 года до 18 лет;
- проспективная регистрация в исследовании в период с февраля 2020 г. по ноябрь 2022 г. в центрах-участниках исследования;
- отсутствие инициальной нейрорлейкемии;
- инициальный лейкоцитоз $< 100 \times 10^9/\text{л}$;
- отсутствие тяжелых фоновых заболеваний, не позволяющих проводить терапию в полном объеме;
- отсутствие неконтролируемой инфекции перед началом терапии блинатумомабом;
- достижение полной морфологической ремиссии на 36-е сутки индукции;
- референс МОБ в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева;
- подписанное информированное согласие родителей/опекунов/пациента на участие в исследовании.

В исследовании принимали участие 4 клиники: ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Российская детская клиническая больница – филиал ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Данные собирались для анализа в единую базу, которая была «заморожена» на 1 января 2024 г.

Диагностика и определение событий

Рутинная диагностика ВП-ОЛЛ включала в себя цитоморфологическое исследование костного мозга и ликвора, централизованное иммунофенотипирование, цито- и молекулярную генетику, как было описано ранее [17, 18].

МОБ измерялась методом многоцветной проточной цитометрии (МПЦ) [19, 20] в конце индукции, после окончания терапии блинатумомабом и затем 4 раза в течение поддерживающей терапии (ПТ) с 3-месячным интервалом строго централизованно в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Полная ремиссия (ПР) определялась как наличие менее 5% бластных клеток по данным цитоморфологии костного мозга, отсутствие таковых в цитопрепарате ликвора и отсутствие других экстрамедуллярных проявлений лейкемии.

МОБ-негативная ремиссия диагностировалась, если количество лейкоэмических клеток было менее 0,001% среди всех ядродержащих клеток по данным МПЦ.

Терапия

Общий терапевтический план представлен на *рисунке 1*. Хотя все больные исходно получали одинаковую терапию, для детального анализа они были разделены на группы стандартного (инициальный лейкоцитоз $< 30 \times 10^9/\text{л}$ и селезенка < 4 см из-под края реберной дуги, отсутствие стратифицирующих

аббераций и критериев высокого риска) и промежуточного (инициальный лейкоцитоз $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$ и/или селезенка < 4 см из-под края реберной дуги, отсутствие стратифицирующих генетических аббераций и критериев высокого риска согласно критериям протокола ALL-MB 2008) риска [21]. Все пациенты с ВП-ОЛЛ после постановки диагноза получали индукционную терапию, не отличающуюся от таковой по протоколу ALL-MB 2015 [22]. Индукция ремиссии состояла из ежедневного приема дексаметазона в суточной дозе $6 \text{ мг}/\text{м}^2$ с постепенной отменой после 28-го дня терапии, однократной инфузии ПЭГ-аспарагиназы в дозе $1000 \text{ ЕД}/\text{м}^2$ на 3-и сутки индукции, внутривенных болюсных еженедельных введений винкристина в дозе $1,5 \text{ мг}/\text{м}^2$ №5, однократного введения даунорубицина в дозе $45 \text{ мг}/\text{м}^2$ для больных стандартной группы риска и повторного введения даунорубицина в такой же дозе на 22-е сутки терапии для пациентов промежуточной группы риска, еженедельных интра-текальных введений триплета (метотрексат, цитозар и дексаметазон) в возрастной дозировке. Пациенты группы стандартного риска в случае обнаружения $\geq 10\%$ лейкемических клеток в костном мозге на 15-е сутки индукции также получали второе введение даунорубицина на 22-й день терапии.

В случае достижения клинко-гематологической ремиссии на 36-й день индукции пациент получал курс терапии блинатумомабом (28 дней). При отсутствии клинко-гематологической ремиссии или при уровне МОБ $\geq 5\%$ по окончании индукции далее пациент получал терапию согласно схеме для группы высокого риска протокола ALL-MB 2015 (рисунки 1).

В случае достижения/сохранения МОБ-негативной ремиссии после курса блинатумомаба

(2-я контрольная точка) далее пациент получал ПТ в течение 1 года и профилактику нейролейкемии с помощью интрастекальных введений триплета (до достижения общего количества 15 за все время терапии у пациентов группы стандартного риска и 21 – у пациентов группы промежуточного риска). Контрольными точками для определения МОБ методом МПЦ (МПЦ-МОБ) являлись 36-й день индукции ремиссии, окончание курса блинатумомаба и далее контроль проводился каждые 3 мес во время ПТ и непосредственно после ее завершения (контрольные точки 3, 4, 5 и 6) (рисунки 1).

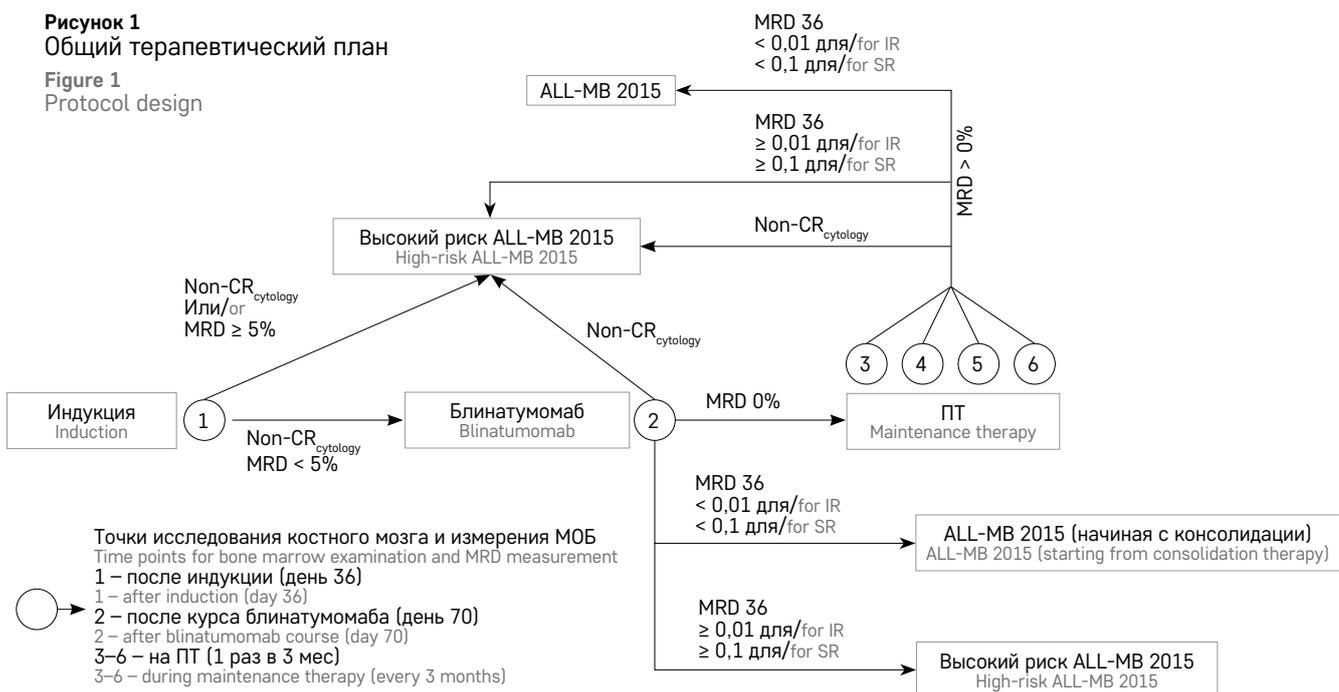
В случае отсутствия МОБ-негативной ремиссии после курса терапии блинатумомабом или появления определяемой МПЦ-МОБ в любой из контрольных точек ПТ далее пациент получал терапию по протоколу ALL-MB 2015 (ветвь терапии определялась в зависимости от уровня МОБ на 36-й день (рисунки 1)) [23].

Статистический анализ

Результаты терапии ОЛЛ оценивали по числу пациентов, у которых была достигнута ПР, количеству ранних смертей, рецидивов, летальных исходов в ПР и числу пациентов, находящихся в продолжительной ПР (ППР), а также по показателям бессобытийной (БСВ) и общей (ОВ) выживаемости, рассчитанным по методу Каплана–Майера [24] за 4-летний период. Для сравнения кривых выживаемости использовали непараметрический log-rank-критерий [25]. Выживаемость рассчитывалась от даты диагностики ОЛЛ до даты наступления неблагоприятного события или даты последнего контакта с пациентом. При оценке БСВ событиями считались смерть в индукции, смерть в

Рисунок 1
Общий терапевтический план

Figure 1
Protocol design



ремиссии, рецидив, вторая опухоль, рефрактерность к терапии (non-responder). При оценке ОБ событием являлась смерть по любой причине.

Оценку кумулятивных рисков развития рецидивов или смерти, обусловленной терапией, проводили согласно методике J. Kalbfleisch, R. Prentice [26, 27]. Для сравнения рисков использовали метод Грея.

При сравнении групп пациентов по категориальным признакам использовали критерий χ^2 или критерий Фишера.

Статистические вычисления были выполнены с помощью программ Prizma Graphpad, версия 3.0 (GraphPad Software Inc, Сан-Диего, США), STATISTICA, версия 6.0 (Statsoft Inc, Талса, США) и программы R, версия 3.4.0 (2017-04-21).

Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В период с февраля 2020 г. по ноябрь 2022 г. из клиник-участников исследования было зарегистрировано согласно критериям включения 165 больных. Инициальные характеристики представлены в *таблице 1*. Несмотря на то, что число больных с благоприятными прогностическими факторами было больше, чем таковое в основном исследовании ALL-MB 2015, тем не менее довольно значительная пропорция пациентов имела такие менее благоприятные характеристики, как возраст ≥ 10 лет (10,9%), инициальный лейкоцитоз $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$ (18,2%), селезенку ≥ 4 см из-под края реберной дуги (27,3%).

Все 165 пациентов успешно завершили индукционную терапию и достигли морфологической ремиссии. У всех больных в конце индукции методом проточной цитометрии была измерена МОБ (*таблица 2*). МПЦ-МОБ оказалась негативной у 136 пациентов, в то время как у 29 больных была обнаружена МПЦ-МОБ различного уровня позитивности. При этом у 20 пациентов уровень МПЦ-МОБ был ниже 0,1%, а у 4 он оказался выше 1%, но менее 5%.

МПЦ-МОБ была исследована у 164 больных после завершения курса иммунотерапии блинатумомом. У 1 пациента (МПЦ-МОБ-негативен в конце индукции ремиссии) курс блинатумомаба был прерван из-за острой нейротоксичности, и в дальнейшем он получал лечение в соответствии с терапевтическим планом для группы промежуточного риска протокола ALL-MB 2015. У 163 из 164 больных независимо от уровня МПЦ-МОБ в конце индукции была подтверждена МПЦ-МОБ-негативная ремиссия после курса иммунотерапии блинатумомом. Одна девочка подросткового возраста с исходно высокой МПЦ-МОБ в конце индукции ремиссии ($> 1\%$) осталась МПЦ-МОБ-позитивной после лечения блина-

Таблица 1
Инициальные характеристики пациентов, включенных в исследование

Table 1
Initial characteristics of patients

Параметр Parameter	Всего Total	
	n	%
Пол: Gender:		
мальчики boys	87	52,7
девочки girls	78	47,3
Возраст, годы: Age, years:		
< 5	106	64,2
≥ 5 и/and < 10	41	24,9
≥ 10	18	10,9
Селезенка, см из-под края реберной дуги: Spleen, cm below the costal margin:		
< 4	120	72,7
≥ 4	45	27,3
Инициальный лейкоцитоз, $\times 10^9/\text{л}$: Initial leukocytosis, $\times 10^9/\text{L}$:		
< 10	100	60,6
≥ 10 и/and < 30	35	21,2
≥ 30 и/and < 100	30	18,2
Имунофенотип: Immunophenotype:		
BI	1	0,6
BII	163	98,8
BIII	1	0,6
Генетические аберрации*: Genetic aberrations*:		
t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1	44	27,5
t(1;19)(q23;p13)/TCF3::PBX1	5	3,1
перестройки CRLF2	2	1,2
CRLF2 rearranged		
перестройки ZNF384	2	1,2
ZNF384 rearranged		
перестройки PAX5	2	1,2
PAX5 rearranged		
перестройки KMT2A	1	0,6
KMT2A rearranged		
гипердиплоидия	63	38,2
hyperdiploidy		
гиподиплоидия	1	0,6
hypodiploidy		
другие аберрации**	5	3,1
other aberrations**		
без значимых изменений	35	21,9
no significant aberrations		
Группа риска: Risk groups:		
группа стандартного риска	103	62,4
standard risk group		
группа промежуточного риска	62	37,6
intermediate risk group		

Примечание. * – подробные данные доступны для 160 пациентов; ** – внутрихромосомная амплификация RUNX1, dic(9;12)(p12;p11), делеция 9p.
Note. * – detailed data available for 160 patients; ** – intrachromosomal amplification of RUNX1, dic(9;12)(p12;p11), del(9p).

Таблица 2
Данные МПЦ-МОБ на 36-й день терапии (окончание индукции)

Table 2
MFC-MRD on day 36 of therapy (end of induction)

Уровень МПЦ-МОБ, % MFC-MRD level, %	Всего Total	
	n	%
Негативная Negative	136	82,4
< 0,01	9	5,5
$\geq 0,01$ и/and < 0,1	11	6,7
$\geq 0,1$ и/and < 1	5	3,0
≥ 1	4	2,4

Note. MFC-MRD – minimal residual disease using multicolor flow cytometry.

тумомабом (0,007%). Она была переведена в группу высокого риска, стала МПЦ-МОБ-негативной после первого блока высокодозной терапии и в дальнейшем получила аллогенную ТКМ.

В таблице 3 представлены предварительные результаты лечения в целом и в зависимости от группы риска. Ни одного случая ранней летальности и летальности от терапии, рефрактерного течения заболевания, вторых опухолей зарегистрировано не было. У 10 (6,1%) пациентов были зарегистрированы рецидивы заболевания: в 4 случаях они произошли у больных стандартной группы риска (3,9% всех пациентов стандартной группы риска) и в 6 случаях – у больных группы промежуточного риска (9,7% всех пациентов группы промежуточного риска). По времени возникновения 1 рецидив был очень ранним, 4 – ранними и 5 – поздними. Поздними мы считали рецидивы, развившиеся через 6 мес и более после окончания ПТ. Локализация рецидивов представлена в таблице 3. Из 10 рецидивов 7 оказались изолированными костномозговыми, а 3 были представлены изолированным или комбинированным поражением центральной нервной системы (ЦНС). При этом в 2 из 3 случаев рецидивы с поражением ЦНС развились у больных из группы стандартного риска.

На рисунке 2 представлены БСВ и ОВ, а также конкурирующие кумулятивные риски рецидивов как для всех больных, так и в зависимости от группы риска. БСВ для всех больных практически за 4 года исследования составила $89,1 \pm 3,7\%$, риск возникно-

вения рецидива заболевания – $10,9 \pm 3,8\%$. В группе стандартного риска БСВ и риск рецидива составили $92,0 \pm 4,2\%$ и $8,0 \pm 4,3\%$ соответственно, а в группе промежуточного риска – $82,8 \pm 8,1\%$ и $17,2 \pm 8,5\%$ соответственно. Поскольку случаев летальности на момент анализа результатов не зарегистрировано, то ОВ в целом и в подгруппах оказалась равной 100%.

Для подробного анализа токсичности доступны данные по 147 пациентам. Наиболее частыми проявлениями токсичности иммунотерапии блинатумомабом были цитокиновая лихорадка в начале лечения ($n = 35$; 23,8%), нейротоксичность ($n = 11$; 7,5%) и инфекции ($n = 53$; 36%) (таблица 4). Все проявления токсичности были легкой или умеренной степени тяжести, не требовали прерывания курса блинатумомаба и не являлись серьезной клинической проблемой. Лишь в 1 случае, как уже было отмечено ранее, из-за развития судорог курс иммунотерапии был прерван, и ребенок переведен на стандартный протокол ALL-MB 2015.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лечение ОЛЛ даже без высокодозной терапии приводит к целому ряду серьезных осложнений, таких как связанная с винкристином нейропатия у большинства больных, связанный с аспарагиназой панкреатит в 10–18% случаев, энцефалопатия и индуцируемый высокими дозами метотрексата инсультподобный синдром в 10–15% случаев, а также тромбозмо-

Таблица 3
Результаты терапии в целом и по группам риска

Table 3
Therapy results in all study patients and by risk groups

Параметр Parameter	Все пациенты All patients		Стандартная группа риска Standard-risk group		Промежуточная группа риска Intermediate-risk group	
	n	%	n	%	n	%
Всего Total	165	100	103	100	62	100
Смерть в индукции Induction death	0	0	0	0	0	0
Non-response	0	0	0	0	0	0
ПР CR	165	100	103	100	62	100
Рецидивы (всего) Relapses (total)	10	6,1	4	3,9	6	9,7
Локализация рецидива: Localization:						
изолированный костный мозг bone marrow	7	4,2	2	1,9	5	8,1
ЦНС CNS	1	0,6	1	0,97	0	0
костный мозг + экстрамедуллярный bone marrow + extramedullary	1	0,6	0	0	1	1,6
костный мозг + ЦНС + экстрамедуллярный bone marrow + CNS + extramedullary	1	0,6	1	0,97	0	0
Вторая опухоль Second tumor	0	0	0	0	0	0
Смерть в ремиссии Remission death	0	0	0	0	0	0
Потерянные из-под наблюдения Lost-to-follow-up	0	0	0	0	0	0
ППР CCR	155	93,9	99	96,1	56	90,3

Note. CNS – central nervous system; CR – complete remission; CCR – continuous CR.

лизм, кардиомиопатия, нефротоксичность, нейрокогнитивные нарушения, аваскулярный остеонекроз, существенный риск развития вирусных, бактериальных и грибковых инфекций [9, 10]. В связи с этим остро стоит задача редукции химиотерапии у больных ОЛЛ с благоприятными прогностическими факторами. Наиболее важным фактором прогноза у детей с ВП-ОЛЛ является ответ на терапию, определяемый в том числе с помощью методов проточной цитометрии по уровню МОБ. Анализ международных МОБ-ориентированных протоколов химиотерапии ОЛЛ у детей и подростков и собственных данных показал, что больные с ВП-ОЛЛ, достигшие МОБ-негативной ремиссии в конце индукции, имеют очень хороший прогноз с выживаемостью более 90% [28].

Биспецифическое антитело к Т-клеткам блинатумомаб стало одним из наиболее часто используемых иммунотерапевтических агентов в детской онкологии [11]. Блинатумомаб является биспецифическим активатором Т-клеток и представляет собой антитело-конструкт, селективно связывающееся с антигеном CD19, экспрессируемым на поверхности В-клеток, и антигеном CD3, экспрессируемым на поверхности Т-клеток. Опосредованное блинатумомабом образование цитолитического синапса между Т-клеткой и опухолевой клеткой приводит к высвобождению протеолитических ферментов, разрушающих клетки-мишени как в стадии пролиферации, так и в стадии покоя [29, 30]. Исходно данный препарат был создан и зарегистрирован для лечения больных с рецидивами и рефрактерными случаями ВП-ОЛЛ у детей и взрослых. На модели этих сложных больных было показано, что основными прогностическими факторами высокой эффективности блинатумомаба являются низкая масса опухоли и достаточное количество собственных лимфоцитов [30, 31]. Эти условия, как правило, выполняются у больных, достигших морфологической ремиссии после завершения индукционной терапии.

Основываясь на многообещающих результатах лечения рецидивов и рефрактерных форм ВП-ОЛЛ [12, 13], иммунотерапия блинатумомабом стала использоваться в протоколах для первичных больных ВП-ОЛЛ [15, 16, 32, 33]. Однако в большинстве исследований блинатумомаб использовался лишь для эскалации лечения или иногда в качестве замены интенсивной высокодозной химиотерапии у детей с плохим ответом, как с последующей ТКМ, так и без нее [15]. С той же целью блинатумомаб используется у детей с ОЛЛ с генетическими абберациями с вовлечением гена *KMT2A* [32, 33], иногда независимо от их ответа на лечение по данным МОБ [32].

Основная идея новой концепции иммунотерапии ВП-ОЛЛ у детей и подростков – раннее, т. е. непосредственно после индукции ремиссии, применение

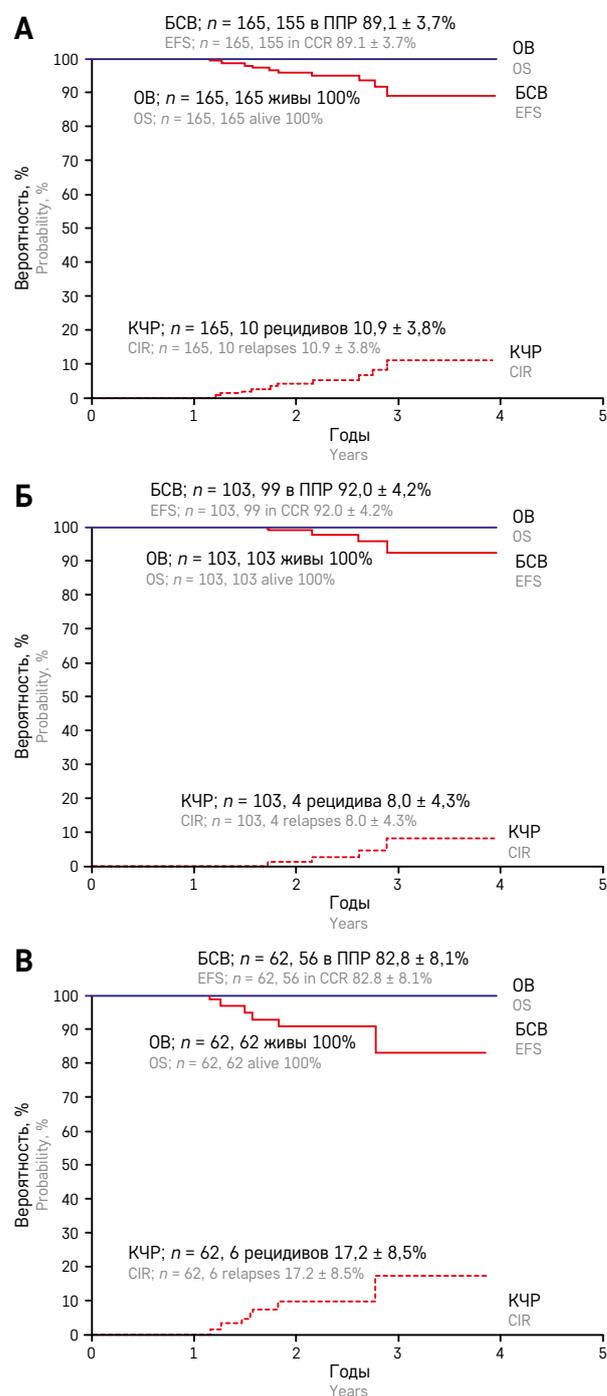
блинатумомаба в целях максимальной эрадикации остаточного лейкоэмического пула, в том числе лейкоэмических клеток, находящихся в состоянии покоя, с последующей значительной редукцией химиотерапии.

В данном исследовании представлен анализ эффективности одного курса блинатумомаба вместо

Рисунок 2

БСВ, ОВ и кумулятивная частота развития рецидива (КЧР) у пациентов, включенных в исследование А – все пациенты; Б – группа стандартного риска; В – группа промежуточного риска

Figure 2
Event-free survival (EFS), overall survival (OS) and cumulative incidence of relapse (CIR) in study patients
A – all patients; Б – standard-risk group; В – intermediate-risk group



всей консолидирующей химиотерапии у первичных больных. Фактически все 3 блока консолидации (24 нед) заменяются одним 28-дневным курсом терапии блинатумомабом в дозе 15 мкг/м²/сут, при этом длительность ПТ редуцирована до 1 года по сравнению с таковой в исследовании ALL-MB 2015. Обоснованием для этого протокола было предположение, что CD19-направленная иммунотерапия позволяет достичь эквивалентного или даже более глубокого ответа (намного ниже порога обнаружения МОБ) и снизить остаточную массу лейкоми-

ческих клеток после индукции более эффективно, чем терапия консолидации по протоколу ALL-MB 2015, даже у пациентов с отрицательной МОБ в конце индукции ремиссии. Это согласуется с философией протоколов группы «Москва–Берлин», которая заключается в значительной редукции терапии для большинства пациентов, не относящихся к группе высокого риска [1, 2, 28, 34]. Ранее было показано, что при тщательном анализе клинических факторов риска в сочетании с ответом по МОБ у половины детей с ВП-ОЛЛ может успешно применяться низкоинтенсивная терапия [34, 35], а еще у четверти – терапия средней интенсивности [23, 28]. Однако дальнейшая дезэскалация терапии цитостатиками, скорее всего, невозможна без неблагоприятного воздействия на показатели излечения. Инновационный дизайн пилотного протокола ALL-MB 2019 включает 1 курс блинатумомаба вместо всех 3 консолидаций, продолжительность ПТ также сокращена (таблица 5).

Конечно, такая схема редуцированной терапии требует постоянного мониторинга течения заболевания во время лечения и мер безопасности в случае, если пациенты снова становятся МОБ-положительными после иммунотерапии. В таких случаях протокол предусматривал переключение пациентов на терапию в соответствии с обычным протоколом ALL-MB 2015. По этой причине в отличие от разового измерения МОБ [23] в протоколе лечения был реализован ее мониторинг в нескольких временных точках после иммунотерапии. Результаты данного мониторинга показывают, что почти все дети (99,2%) становятся МОБ-отрицательными после лечения блинатумомабом. Этот высокий уровень отрицательной МОБ достигается независимо от исходных параметров риска и ответа на терапию в конце индукции. Более того, почти все исследованные

Таблица 4
Токсичность курса блинатумомаба ($n = 147$)

Table 4
Toxicity of blinatumomab course ($n = 147$)

Симптом Symptom	Число пациентов Number of patients	%
Тошнота Nausea	10	6,8
Рвота Vomiting	4	2,7
Стоматит Stomatitis	7	4,8
Тромбозы Thrombosis	6	4,1
Гипертензия Hypertension	6	4,1
Синдром выброса цитокинов Cytokine release syndrome	35	23,8
Нейротоксичность Neurotoxicity	11 головная боль ($n = 7$), тремор ($n = 1$), судороги ($n = 2$; в 1 случае курс прерван без возобновления), онемение ($n = 1$)	7,5
Инфекции Infections	53 во всех случаях лихорадка легкой степени тяжести менее 5 дней	36,0

Таблица 5
Интенсивность химиотерапии в зависимости от протокола

Table 5
Chemotherapy intensity depending on the protocol

Медикамент Medication	ALL-MB 2015	ALL-PILOT 2019
Дексаметазон 6 мг/м ² Dexamethasone 6 mg/m ²	138 дней 138 days	28 дней 28 days
ПЭГ-аспарагиназа 1000 ЕД/м ² PEG-asparaginase 1000 U/m ²	1 введение 1 injection	1 введение 1 injection
L-аспарагиназа 5000/10 000 Ед/м ² L-asparaginase 5000/10 000 U/m ²	18 введений 18 injections	–
Винкрестин 1,5 мг/м ² Vincristine 1.5 mg/m ²	27 введений 27 injections	5 введений 5 injections
Даунорубин Daunorubicin	Кумулятивная доза 195 мг 195 mg cumulative dose	Кумулятивная доза 45 мг 45 mg cumulative dose
Блинатумомаб Blinatumomab	–	5 мкг/м ² – 7 дней 15 мкг/м ² – 21 день 5 µg/m ² – 7 days 15 µg/m ² – 21 days
Меркаптопурин 50 мг/м ² Mercaptopurine 50 mg/m ²	2 года ежедневно (с перерывом на реиндукции) 2 years daily (with a pause for reinduction)	1 год ежедневно 1 year daily
Метотрексат 30 мг/м ² Methotrexate 30 mg/m ²	2 года еженедельно (с перерывом на реиндукции) 2 years weekly (with a pause for reinduction)	1 год еженедельно 1 year weekly
Общая длительность лечения Total treatment duration	2 года 2 years	1 год 2 мес 1 year 2 months

пациенты находились в стойкой МОБ-негативной ПР в конце терапии, хотя фаза консолидации и ПТ были редуцированы. Тем не менее за 4 года исследования из 165 больных было зарегистрировано 10 рецидивов: 4 среди пациентов стандартной группы риска, 6 у больных группы промежуточного риска. При этом БСВ за 4 года оказалась абсолютно сопоставима с таковой в исследовании ALL-MB 2015. Однако она была достигнута, несмотря на резкую редукцию системной химиотерапии с полным отказом от повторных курсов винкристина, дексаметазона, аспарагиназы и сокращением общей длительности лечения больных на целый год (таблица 5). Все дети завершили лечение, живы, никаких серьезных побочных эффектов обнаружено не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что представленные в настоящей работе результаты являются предварительными и требуется больше времени для окончательных выводов, тем не менее данное исследование показывает принципиальную возможность лечения ОЛЛ

путем комбинации иммунотерапии биспецифическим моноклональным антителом блинатумомаб со значительной редукцией химиотерапии. Этот первый опыт, безусловно, является основой для последующей оптимизации комбинированной иммуно- и химиотерапии у первичных больных ОЛЛ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Karachunskiy A.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9300-198X>
Rumyantseva Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9670-3728>
Zharikova L.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1105-8676>
Bydanov O.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3232-2322>
Lagoiko S.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3793-104X>
Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>
Mikhailova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3450-0498>
Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>
Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>
Litvinov D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7461-0050>
Khachatryan L.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7265-0414>
Dinikina Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2003-0982>
Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Литература

1. Румянцева Ю.В., Карачунский А.И. Оптимизация терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в России и Белоруссии: стратегия Москва–Берлин. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2007; 6 (4): 13–22. [Rumyantseva Yu.V., Karachunskiy A.I. The optimization of treatment for acute lymphoblastic leukemia in children in Russia and Belarus: Moscow–Berlin strategy. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2007; 6 (4): 13–22. (In Russ.)].
2. Karachunskiy A., Herold R., von Stackelberg A., Miakova N., Timakow A., Mahortih T., et al. Results of the first randomized multicentre trial on childhood acute lymphoblastic leukaemia in Russia. Leukemia 2008; 22(6): 1144–1153. DOI: 10.1038/leu.2008.63
3. Hunger S.P., Lu X., Devidas M., Camitta B.M., Gaynon P.S., Winick N.J., et al. Improved survival for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia between 1990 and 2005: A report from the Children's Oncology Group. J Clin Oncol 2012; 30 (14): 1663–9. DOI: 10.1200/JCO.2011.37.8018
4. Raetz E., Lu X., Devidas M., Loh M., Winick N., Carroll W., et al. Continued improvements in overall survival (OS) in children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia (ALL): A Children's Oncology Group (COG) report. Pediatr Blood Cancer 2018; 65 (Suppl 1): e27057.
5. Toft N., Birgens H., Abrahamson J., Griškevičius L., Hallböök H., Heyman M., et al. Results of NOPHO ALL2008 treatment for patients aged 1–45 years with acute lymphoblastic leukemia. Leukemia 2018; 32 (3): 606–15. DOI: 10.1038/leu.2017.265
6. Moorman A.V., Antony G., Wade R., Butler E.R., Enshaei A., Harrison C.J., et al. Time to cure for childhood and young adult acute lymphoblastic leukemia is independent of early risk factors: Long-term follow-up of the UKALL2003 trial. J Clin Oncol 2022; 40 (36): 4228–39. DOI: 10.1200/JCO.22.00245
7. Pieters R., Mullighan C.G., Hunger S.P. Advancing Diagnostics and Therapy to Reach Universal Cure in Childhood ALL. J Clin Oncol 2023; 41 (36): 5579–91. DOI: 10.1200/JCO.23.01286
8. Robison L.L., Bhatia S. Late-effects among survivors of leukaemia and lymphoma during childhood and adolescence. Br J Haematol 2003; 122 (3): 345–59. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04499.x
9. Schmiegelow K., Attarbaschi A., Barzilai S., Escherich G., Frandsen T.L., Halsey C., et al. Consensus definitions of 14 severe acute toxic effects for childhood lymphoblastic leukaemia treatment: a Delphi consensus. Lancet Oncol 2016;

- 17 (6): e231–9. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30035-3
10. Schmiegelow K., Müller K., Mogensen S.S., Mogensen P.R., Wolthers B.O., Stoltze U.K., et al. Non-infectious chemotherapy-associated acute toxicities during childhood acute lymphoblastic leukemia therapy. *F1000Res* 2017; 6: 444. DOI: 10.12688/f1000research.10768.1
11. Viardot A., Locatelli F., Stieglmaier J., Zaman F., Jabbour E. Concepts in immuno-oncology: tackling B cell malignancies with CD19-directed bispecific T cell engager therapies. *Ann Hematol* 2020; 99 (10): 2215–29. DOI: 10.1007/s00277-020-04221-0
12. Brown P.A., Ji L., Xu X., Devidas M., Hogan L.E., Borowitz M.J., et al. Effect of Postreinduction Therapy Consolidation With Blinatumomab vs Chemotherapy on Disease-Free Survival in Children, Adolescents, and Young Adults With First Relapse of B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2021; 325 (9): 833–42. DOI: 10.1001/jama.2021.0669
13. Locatelli F., Zugmaier G., Rizzari C., Morris J.D., Gruhn B., Klingebiel T., et al. Effect of Blinatumomab vs Chemotherapy on Event-Free Survival Among Children With High-risk First-Relapse B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2021; 325 (9): 843–54. DOI: 10.1001/jama.2021.0987
14. Locatelli F. Blinatumomab before allogeneic stem cell transplantation: the ideal strategy to improve patient's outcomes? *Transplant Cell Ther* 2024; 30 (2): 129–30. DOI: 10.1016/j.jtct.2024.01.061
15. Queudeville M., Ebinger M. Blinatumomab in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia—From Salvage to First Line Therapy (A Systematic Review). *J Clin Med* 2021; 10 (12): 2544. DOI: 10.3390/jcm10122544
16. Hodder A., Mishra A.K., Enshaei A., Baird S., Elbeshlawi I., Bonney D., et al. Blinatumomab for First-Line Treatment of Children and Young Persons With B-ALL. *J Clin Oncol* 2023; JCO2301392. Epub ahead of print. DOI: 10.1200/JCO.23.01392
17. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Дёмина И.А., Михайлова Е.В., Семченкова А.А. и др. Диагностическое иммунофенотипирование острых лейкозов. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2023; 22 (1): 165–77. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-165-177 [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Movchan L.V., Demina I.A., Mikhailova E.V., Semchenkova A.A., et al. Flow cytometry in acute leukemia diagnostics. Guidelines of Russian–Belarusian multicenter group for pediatric leukemia studies. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (1): 165–77. (In Russ.)].
18. Цаур Г.А., Ольшанская Ю.В., Обухова Т.Н., Судариков А.Б., Лазарева О.В., Гиндина Т.Л. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая диагностика онкогематологических заболеваний: позиция Организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии. *Гематология и трансфузиология* 2023; 68 (1): 129–43. DOI: 10.35754/0234-5730-2023-68-1-129-143 [Tsaur G.A., Olshanskaya Yu.V., Obukhova T.N., Sudarikov A.B., Lazareva O.V., Gindina T.L. Cytogenetic and molecular genetic diagnostics in oncohematological disorders: a position paper of the Organization of Molecular Geneticists in Oncology and Oncohematology. *Russian journal of hematology and transfusiology* 2023; 68 (1): 129–43. (In Russ.)].
19. Михайлова Е.В., Илларионова О.И., Масчан М.А., Новичкова Г.А., Карачунский А.И., Попов А.М. Рекомендации по определению минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии при остром В-лимфобластном лейкозе в условиях применения CD19-направленной терапии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (2): 175–84. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-2-175-184 [Mikhailova E.V., Illarionova O.I., Maschan M.A., Novichkova G.A., Karachunskiy A.I., Popov A.M. Guidelines for the flow cytometric minimal residual disease monitoring in B-lineage acute lymphoblastic leukemia after CD19-directed immunotherapy. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (2): 175–84. (In Russ.)].
20. Mikhailova E., Illarionova O., Komkov A., Zerkalnikova E., Mamedov I., Shelikhova L., et al. Reliable Flow-Cytometric Approach for Minimal Residual Disease Monitoring in Patients with B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia after CD19-Targeted Therapy. *Cancers (Basel)* 2022; 14 (21): 5445. DOI: 10.3390/cancers14215445
21. Михайлова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Румянцева Ю.В., Илларионова О.И., Семченкова А.А., Фечина Л.Г. и др. Влияние режима приема дексаметазона на выявление нормальных В-клеточных предшественников в костном мозге у детей с острым лимфобластным лейкозом на момент окончания индукционной терапии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2020; 19 (1): 53–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-1-53-57 [Mikhailova E.V., Verzhbitskaya T.Yu., Roumiantseva J.V., Illarionova O.I., Semchenkova A.A., Fechina L.G., et al. The influence of a dosage regimen of dexamethasone on detection of normal B-cell precursors in the bone marrow of children with BCP-ALL at the end of induction therapy. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2020; 19 (1): 53–7. (In Russ.)].
22. Супрун Р.Н., Румянцева Ю.В., Быданов О.И., Жарикова Л.И., Лагойко С.Н., Лебедев В.В. и др.

- Острый лимфобластный лейкоз у детей с синдромом Дауна: сравнительный анализ результатов лечения по протоколам ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2022; 9(3): 12–31. DOI: 10.21682/2311-1267-2022-9-3-12-31 [Suprun R.N., Rumyantseva Yu.V., Bydanov O.I., Zharikova L.I., Lagoiko S.N., Lebedev V.V. et al. Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome: comparative analysis of treatment results according to ALL-MB 2008 and ALL-MB 2015 protocols. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2022; 9 (3): 12–31. (In Russ.)].
23. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. A simple procedure to identify children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia who can be successfully treated with low or moderate intensity: Sequential versus single-point minimal residual disease measurement. *Pediatr Blood Cancer* 2023; 70 (6): e30295. DOI: 10.1002/pbc.30295
 24. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457–81.
 25. Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep* 1966; 50 (3): 163–70.
 26. Kalbfleisch J., Prentice R. *The Statistical Analysis of Failure Time Data*. Wiley, New York; 2002.
 27. Cortese G., Andersen P.K. Competing risks and time-dependent covariates. *Biom J* 2010; 52 (1): 138–58. DOI: 10.1002/bimj.200900076
 28. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. One-point flow cytometric MRD measurement to identify children with excellent outcome after intermediate-risk BCP-ALL: results of the ALL-MB 2008 study. *J Cancer Res Clin Oncol* 2023; 149 (8): 4629–37. DOI: 10.1007/s00432-022-04378-3
 29. Clements J.D., Zhu M., Kuchimanchi M., Terminello B., Doshi S. Population Pharmacokinetics of Blinatumomab in Pediatric and Adult Patients with Hematological Malignancies. *Clin Pharmacokinet* 2020; 59 (4): 463–74. DOI: 10.1007/s40262-019-00823-8
 30. Chitadze G., Laqua A., Lettau M., Baldus C.D., Brüggemann M. Bispecific antibodies in acute lymphoblastic leukemia therapy. *Expert Rev Hematol* 2020; 13 (11): 1211–33. DOI: 10.1080/17474086.2020.1831380
 31. von Stackelberg A., Locatelli F., Zugmaier G., Handgretinger R., Trippett T.M., Rizzari C., et al. Phase I/Phase II Study of Blinatumomab in Pediatric Patients With Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* 2016; 34 (36): 4381–9. DOI: 10.1200/JCO.2016.67.3301
 32. van der Sluis I.M., de Lorenzo P., Kotecha R.S., Attarbaschi A., Escherich G., Nysom K., et al. Blinatumomab Added to Chemotherapy in Infant Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 2023; 388 (17): 1572–81. DOI: 10.1056/NEJMoa2214171
 33. Popov A., Fominikh V., Mikhailova E., Shelikhova L., Tsaur G., Abugova Y., et al. Blinatumomab following hematopoietic stem cell transplantation - a novel approach for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia in infants. *Br J Haematol* 2021; 194 (1): 174–8. DOI: 10.1111/bjh.17466
 34. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. A simple algorithm with one flow cytometric MRD measurement identifies more than 40% of children with ALL who can be cured with low-intensity therapy. *The ALL-MB 2008 trial results. Leukemia* 2022; 36 (5): 1382–5. DOI: 10.1038/s41375-022-01542-z
 35. Popov A., Henze G., Roumiantseva Yu., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. Low-intensity therapy cures over 40% of children with rapid Flow-MRD responding ALL: the ALL-MB 2008 trial results. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2022; 21 (2): 95–104. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-2-95-104

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-25-36

Влияние иммуноархитектурных паттернов на клиническую презентацию и ответ на проводимую терапию у детей при нодулярной лимфоме Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием

М.А. Сенченко, Д.С. Абрамов, Н.В. Мякова, Д.М. Коновалов

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

В последние годы произошла смена взглядов в сторону деэскалации терапии для ранних стадий нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием (НЛХЛП), которая позволяет уменьшить частоту отдаленных эффектов химио- и лучевой терапии, при этом сохранив ее эффективность. Пациентам с I стадией достаточным является проведение хирургического лечения в объеме эксцизионной биопсии. В случае невозможности достижения полной ремиссии хирургическим методом и пациентам со II стадией назначают низкодозовую химиотерапию в объеме 3 курсов CVP (циклофосфамид, винбластин, преднизолон). В части случаев отмечается неполный ответ на проводимую терапию с последующей прогрессией основного заболевания. С учетом этого на сегодняшний день продолжается поиск факторов неблагоприятного клинического течения НЛХЛП, одним из которых может являться иммуноархитектурный паттерн. Цель нашей работы – сравнение клинических характеристик, особенностей ответа на проводимую терапию и частоты развития рецидива в зависимости от типа иммуноархитектурного паттерна. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В исследование включены 49 пациентов (39 мальчиков и 10 девочек) в возрасте от 2 до 18 лет (медиана 10 лет) с установленным диагнозом НЛХЛП, которые с учетом гистологической картины были разделены на 2 группы: типичные паттерны ($n = 21, 42,9\%$) и атипичные паттерны ($n = 28, 57,1\%$). При сравнении 2 групп использовался точный критерий Фишера. Ранняя стадия (I–II) на момент манифестации заболевания была установлена у 33 пациентов, стадия III – у 14, стадия IV – у 2 детей с поражением печени и легких в одном случае и костей – во втором. Существенных различий в клинической картине (стадия, В-симптомы, поражение лимфатических узлов средостения и внутрибрюшных) между 2 группами паттернов выявлено не было за исключением наличия массивного поражения (≥ 6 см) лимфатических узлов ($p = 0,0064$). Была отмечена более высокая частота неполного ответа на проводимую терапию и прогрессии в группе атипичных паттернов (типичный: $n = 1/21, 4,8\%$ vs атипичный: $n = 14/28, 50\%$; $p = 0,00061$). Также наблюдалась более высокая частота развития рецидива в группе атипичных паттернов (типичный: $n = 1/21, 4,8\%$ vs атипичный: $n = 5/28, 17,9\%$; $p = 0,219$). Общая выживаемость составила 100% при медиане наблюдения 28 (3–108) мес. Таким образом, в нашем исследовании была выявлена более высокая частота неблагоприятных исходов у пациентов с атипичными паттернами НЛХЛП в сравнении с группой пациентов с типичными паттернами. Необходимо дальнейшее изучение прогностического значения иммуноархитектурных паттернов, которые могут стать одним из критериев стратификационной шкалы риска при распределении на терапевтические группы пациентов с НЛХЛП.

Ключевые слова: нодулярная лимфома Ходжкина, лимфоцитарное преобладание, ранняя стадия, эксцизионная биопсия, иммуноархитектурный паттерн

Сенченко М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 25–36. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-25-36

The impact of immunoarchitectural patterns on clinical presentation and response to therapy in children with nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma

M.A. Senchenko, D.S. Abramov, N.V. Myakova, D.M. Konovalev

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

In recent years, there has been a trend towards de-escalation of therapy in patients with early stages of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL) which enables reduction in the frequency of late effects of chemo- and radiation therapy while still maintaining their effectiveness. Patients with stage I NLPHL only require excisional biopsy of lymph nodes. If complete remission cannot be achieved by surgery alone or if patients have stage II NLPHL, 3 cycles of low-dose CVP (cyclophosphamide, vinblastine, prednisolone) chemotherapy are administered. In some cases, patients show incomplete response to therapy with subsequent progression of the disease. Hence, the search for factors of unfavorable clinical course of NLPHL still continues, with an immunoarchitectural pattern potentially being one of them. Here, we aimed to compare clinical features, treatment responses and relapse rates in patients with NLPHL based on the type of an immunoarchitectural pattern. 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. In our study, we included a cohort of 49 patients (39 boys, 10 girls) aged 2 to 18 years (median age: 10 years) with diagnosed NLPHL who were divided into 2 groups based on

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 27.04.2023

Принята к печати 16.01.2024



EDN: BFMXPI

Контактная информация:

Сенченко Мария Анатольевна, аспирант, младший научный сотрудник отдела клинической патологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: mariya.senchenko@fccho-moscow.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPO»

Received 27.04.2023

Accepted 16.01.2024

Correspondence:

Maria A. Senchenko, a postgraduate student, a junior researcher at the Department of Clinical Pathology of 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: mariya.senchenko@fccho-moscow.ru

histological features of the disease: typical patterns ($n = 21, 42.9\%$) and atypical patterns ($n = 28, 57.1\%$). The two groups were compared using the exact Fisher test. Thirty-three patients had early stage I–II disease at baseline, 14 patients had stage III disease, and 2 patients were diagnosed with stage IV lymphoma affecting the liver and lungs in one case and bones in the other. Clinical characteristics (such as disease stage, B symptoms, the involvement of mediastinal and intra-abdominal lymph nodes) didn't vary much between the groups, the only exception being the presence/absence of bulky disease (≥ 6 cm) ($p = 0.0064$). A higher rate of partial response to therapy and disease progression frequency were revealed in the group of atypical patterns (typical: $n = 1/21, 4.8\%$ vs atypical: $n = 14/28, 50\%$; $p = 0.00061$). This group was also characterized by a higher relapse rate (typical patterns: $n = 1/21, 4.8\%$ vs atypical: $n = 5/28, 17.9\%$; $p = 0.219$). The overall survival rate was 100%, with a median follow-up of 28 (3–108) months. In our study, we revealed a higher incidence of adverse outcomes in the patients with atypical NLPHL patterns compared to the group with typical patterns. The prognostic value of immunoarchitectural patterns needs to be explored more thoroughly, as they have the potential to become one of the criteria for risk stratification of patients with NLPHL.

Key words: nodular Hodgkin lymphoma, lymphocyte predominance, early stage, excisional biopsy, immunoarchitectural pattern

Senchenko M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 25–36.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-25-36

Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием (НЛХЛП) – это индолентная В-клеточная лимфома, которая происходит из активных герминативных центров лимфоидных фолликулов и наиболее часто поражает периферические лимфатические узлы (ЛУ) [1–7].

Несмотря на свои клинические, морфологические, иммуногистохимические и генетические особенности, НЛХЛП на сегодняшний день включена в группу лимфом Ходжкина (ЛХ) [8]. Частота встречаемости НЛХЛП у детей, по разным данным, составляет от 5 до 10% всех ЛХ [9–13].

До недавнего времени у пациентов с НЛХЛП и с классической ЛХ (кЛХ) применялись одинаковые терапевтические подходы [12, 14–22]. Пациенты получали химиотерапию с дальнейшим проведением лучевой терапии (ЛТ). Все это повышало риск возникновения отдаленных побочных эффектов, самыми серьезными из которых являются развитие второй опухоли, нарушения кроветворения, патологии со стороны сердечно-сосудистой системы и легких, гипотиреоз [15, 18, 20, 23–27]. Особенно это актуально у детей, учитывая длительную продолжительность жизни после проведенной терапии.

В настоящее время большинство исследователей стараются снизить необходимость проведения ЛТ и химиотерапевтическую нагрузку у детей с кЛХ. Для этого изучаются различные прогностические факторы, позволяющие выделить группу низкого риска развития рецидива и уменьшить для нее интенсивность терапии. Тот же подход применим к пациентам с ранними стадиями НЛХЛП, особенно учитывая индолентное течение заболевания и риск развития поздних побочных эффектов.

Основной целью дезэскалации терапии является снижение ее токсичности при сохранении эффективности. В настоящее время хирургический метод лечения как основной может применяться у пациентов с I стадией без дальнейшего применения химиотерапии и ЛТ при подтверждении полной ремиссии (ПР) по результатам проведенной компьютерной томографии (КТ) или позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ)/КТ. Низкодозовая химиотерапия

(3 курса СVP: циклофосфамид, винбластин, преднизолон) применяется у пациентов со II стадией, а также при наличии остаточной опухоли после проведенного хирургического лечения у пациентов с I стадией [28].

Однако, несмотря на общий благоприятный прогноз, для НЛХЛП характерны частые рецидивы с возможным риском развития диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ДКБКЛ) в исходе [29–31]. В связи с этим некоторые авторы высказывают опасения в отношении уменьшения интенсивности проводимой терапии и в особенности применения хирургического метода как основного. В их работах было показано развитие более продвинутой стадии заболевания при возникновении рецидива у некоторых пациентов с ранней стадией после проведенного хирургического лечения без дополнительной химиотерапии или ЛТ [32, 33].

При изучении морфологических особенностей НЛХЛП были выделены 6 иммуноархитектурных паттернов, которые разделены на 2 группы: типичные и атипичные паттерны [34]. В части работ, выполненных преимущественно во взрослой популяции, показано, что у пациентов с атипичными паттернами чаще отмечаются неблагоприятное клиническое течение, инициально продвинутая стадия, плохой ответ на проводимую терапию, частое развитие рецидивов по сравнению с пациентами с типичными паттернами [35–38]. В детской популяции данные работы единичны [39–41].

Принимая во внимание смену взглядов в лечении пациентов с НЛХЛП, необходимо дальнейшее изучение прогностического значения иммуноархитектурных паттернов как возможного предиктора неблагоприятного течения заболевания, в частности плохого ответа на терапию. Этот фактор может стать в будущем одним из критериев стратификационной шкалы риска при делении пациентов на терапевтические группы.

В настоящей статье рассмотрено прогностическое значение иммуноархитектурных паттернов у детей с НЛХЛП, их влияние на клиническую презентацию, ответ на проводимую терапию и риск развития рецидива.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Исследование носит ретроспективный характер и включает 49 пациентов с НЛХЛП в возрасте от 2 до 18 лет, диагноз которым был установлен в патологоанатомическом отделении НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева за период с 2014 г. по 2021 г. включительно. Все случаи были пересмотрены в целях установления 1 из 6 иммуноархитектурных паттернов в соответствии с классификацией Fan [34], которые в дальнейшем были разделены на 2 группы: типичные (A, B) и атипичные (C, D, E, F) паттерны/варианты. Во всех случаях было выполнено иммуногистохимическое исследование с анти-CD20, CD79a, BCL6, CD30, PAX-5, OCT2, BOB-1, EMA, CD15, CD30, CD3, PD1, CD23, EBV. Оценка иммуноархитектурных паттернов проводилась при иммуногистохимическом исследовании с анти-CD20 и OCT2. При распределении на группы учитывался не только основной, преобладающий паттерн, но и минорная фракция. При обнаружении в составе типичных паттернов минорной фракции атипичного варианта случай был отнесен в группу атипичных паттернов.

Клиническая информация и лечение

Клиническая информация была доступна у всех пациентов. Стадия была выставлена по результатам КТ или ПЭТ/КТ в соответствии с классификацией Ann Arbor в 48 случаях, в 1 случае – на основании физического осмотра и ультразвукового исследования [42]. Массивное поражение было охарактеризовано как поражение одиночного ЛУ или конгломерата сливающихся ЛУ, размер которых ≥ 6 см в наибольшем измерении.

Из 49 пациентов 19 (39%) получили терапию в соответствии с протоколами GPOH-HD-2002, GPOH-HD-2003 с применением ОЕРА (винкристин, этопозид, преднизолон, доксорубин) \pm COPDAC (циклофосфамид, винкристин, преднизолон, дакарбазин) с или без ЛТ. Из 49 пациентов 15 (31%) получили от 2 до 4 курсов CVP (циклофосфамид, винбластин, преднизолон) в соответствии с протоколом EuroNet-PHL-LP1 [28], 4 человека из этой группы с IIIA стадией получили комбинированную терапию с добавлением ритуксимаба. У 6 (12%) пациентов с I стадией основным методом лечения был хирургический в объеме эксцизионной биопсии и, наконец, 9 (18%) пациентов с преимущественно продвинутой стадией получили различные режимы полихимиотерапии (таблица 1).

Во всех случаях развития рецидива была проведена биопсия с последующим гистологическим исследованием.

Таблица 1

Основные клинико-эпидемиологические характеристики пациентов, включенных в исследование ($n = 49$)

Table 1

Main clinical and demographic characteristics of the patients included in the study ($n = 49$)

Параметр Parameter	Значение Value
Возраст, медиана (размах), годы Age, median (range), years	10 (2–18)
Пол, n (%): Sex, n (%):	
мужской male	39 (79,5)
женский female	10 (20,5)
Гистология, n (%): Histology, n (%):	
типичные паттерны typical patterns	21 (42,9)
атипичные паттерны atypical patterns	28 (57,1)
Стадия, n (%): Stage, n (%):	
I	14 (28,6)
II	19 (38,8)
III	14 (28,6)
IV	2 (4,1)
поражение средостения mediastinal involvement	9 (18,4)
поражение внутрибрюшных ЛУ intra-abdominal lymph node involvement	10 (20,4)
поражение костного мозга bone marrow involvement	0 (0)
Первая линия терапии, n (%): First-line therapy, n (%):	
хирургическое вмешательство surgery	6 (12,2)
CVP \pm R	15 (30,6)
ОЕРА/COPDAC	19 (38,8)
другие other chemotherapy regimens	9 (18,4)
Ответ на терапию первой линии, n (%): Response to first-line therapy, n (%):	
ПР/неподтвержденная ПР complete remission (CR)/unconfirmed CR	35 (71,4) ¹
частичная ремиссия partial remission	12 (24,5)
прогрессия progressive disease	4 (8,2) ²

Примечание. ¹ – в том числе 2 человека, которым не была выполнена постоперационная КТ или ПЭТ/КТ, а ремиссия установлена на основании проведенного физического осмотра и ультразвукового исследования; ² – в 2 случаях прогрессия возникла спустя 2,5 и 3 мес с момента достижения неподтвержденной ПР и частичной ремиссии соответственно, еще в 2 случаях – на фоне проведения первой линии терапии.

Notes. ¹ – including 2 patients who did not have postoperative computed tomography (CT) or positron emission tomography (PET/CT) scans and remission was established by physical and ultrasound examinations; ² – 2 patients developed progressive disease 2.5 and 3 months after achievement of unconfirmed CR and partial remission, respectively; another 2 patients developed progressive disease during the first-line treatment.

Оценка ответа

Оценка ответа проводилась по данным КТ или ПЭТ/КТ в конце проведенного лечения. При планировании консолидирующей ЛТ после всех блоков химиотерапии оценка ответа с установлением полной, полной неподтвержденной, частичной ремиссии или прогрессии заболевания проводилась перед ее выполнением. Определение статуса ответа проводилось в соответствии с протоколом. ПР устанавливалась при наличии остаточной опухоли $\leq 5\%$ от объема первичной опухоли и ≤ 2 мл. Неподтвержденная ПР устанавливалась в случаях отсутствия ПР и объема остаточной опухоли $\leq 25\%$ от первичной опухоли или объема остаточной опухоли ≤ 2 мл. Парциальная ремиссия устанавливалась при отсут-

ствии ПР и неподтвержденной ПР, объеме остаточной опухоли $\leq 50\%$ от первичной опухоли или остаточном объеме опухоли ≤ 5 мл. Рефрактерность устанавливалась при отсутствии ПР, неподтвержденной ПР или парциальной ремиссии и при отсутствии прогрессии. Прогрессия устанавливалась при увеличении объема опухоли более чем на 25% от объема первичной опухоли, а также в случаях возникновения рецидива в течение первых 3 мес с момента проведения эксцизионной биопсии (при хирургическом лечении как основном) или с момента последнего дня окончания лечения (химиотерапия, ЛТ). Ранний рецидив устанавливался в случае возникновения рецидива между 3-м и 12-м месяцами от окончания терапии. Поздний рецидив – через 1 год от окончания терапии.

Статистический анализ

Оценка общей выживаемости проводилась с момента постановки диагноза до даты последнего наблюдения или смерти.

В работе были использованы методы описательной статистики и точный критерий Фишера для оценки различий в группах типичных и атипичных паттернов. Различия в 2 группах были расценены как статистически значимые при $p \geq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены 49 детей с НЛХЛП в возрасте от 2 до 18 лет (медиана 10 лет), соотношение лиц мужского пола к женскому составило 3,9:1 (39 мальчиков и 10 девочек). Медиана наблюдения с момента обнаружения первых признаков заболевания до постановки диагноза составила 8 (1–72) мес. Ранняя стадия (I–II) заболевания при инициальном обследовании была установлена у 33 (67,3%) пациентов, стадия III–IV – у 16 (32,7%) (таблица 1). В 9 (18,4%) случаях было выявлено поражение ЛУ средостения, в основном паратрахеальных ЛУ, при этом массивное поражение отсутствовало. Поражение внутрибрюшных ЛУ отмечалось в 10 (20,4%) случаях. Экстранодальное поражение было выявлено у 2 (4,1%) пациентов, поражение селезенки – у 2 (4,1%). Повышение температуры при инициальном обследовании отмечено у 7 (14,3%) детей. Признаков поражения костного мозга выявлено не было. Трепанобиопсия костного мозга была выполнена у 15 пациентов (I стадия – 3, II стадия – 6, III стадия – 4, IV стадия – 2), пункция с подсчетом миелограммы – у 11 (I стадия – 2, II стадия – 3, III стадия – 6), исследование костного мозга не проводилось у 23 пациентов, среди которых 4 были со стадией III, остальные имели стадию I–II.

Типичный паттерн при гистологическом исследовании был установлен в 21 случае, в группу

атипичных паттернов были отнесены 28 случаев. Паттерн А был выставлен в 18 (85,7%) случаях, в 4 из которых было выявлено синхронное поражение НЛХЛП в сочетании с прогрессивной трансформацией герминативных центров (ПТГЦ) в пределах 1 ЛУ. Паттерн В был выставлен в 1 (4,8%) случае, в остальных 2 (9,5%) случаях – сочетание паттернов А/В. В группе типичных паттернов ранняя стадия (I–II) заболевания при инициальном обследовании была установлена у 14 (66,7%) пациентов, стадия III – у 7 (33,3%). В 1 (4,8%) случае отмечалось поражение селезенки. В 3 (14,3%) случаях было зафиксировано повышение температуры.

В группе атипичных вариантов ($n = 28$) отмечалось заметное преобладание паттерна С ($n = 20$, 71,4%) в различных вариациях: «чистый» паттерн – 9 случаев, сочетание с другими вариантами – 11. Паттерн F был установлен в 5 (17,9%) случаях, в 3 из которых отмечалось сочетание с другими вариантами (паттерны F/E – 2, паттерны F/C – 1). В 2 (7,1%) случаях отмечалось преобладание паттерна E в сочетании с минорной фракцией паттернов F и C. И, наконец, в группу атипичных паттернов также был включен 1 (3,5%) случай с преобладающим паттерном А, что было обусловлено наличием в пределах одной биопсии минорной фракции паттерна C/D. Стадия I–II была установлена у 20 (71,4%) пациентов, стадия III–IV – у 8 (28,6%), из которых 2 имели IV стадию с экстранодальными очагами поражения. В одном случае отмечалось очаговое поражение печени и множественные очаговые поражения легких, во втором – поражение костей (C7, Th7, заднего отрезка 7-го ребра, костей таза). Повышение температуры отмечалось у 4 (8,2%) пациентов.

При сравнении клинических характеристик 2 групп между собой статистически значимых различий выявлено не было, за исключением массивного поражения ЛУ (таблица 2).

Проводимая терапия и ответ на нее в зависимости от группы паттерна (типичный или атипичный) показан на рисунке 1 и рисунке 2 соответственно.

В общей выборке пациенты получили различное лечение (таблица 3). ПР по результатам данных КТ или ПЭТ/КТ, включая 2 случая с неподтвержденной ПР, была достигнута в 35 (71,4%) случаях (типичный паттерн: $n = 20/35$, 57,1% vs атипичный паттерн: $n = 15/35$, 42,9%). Парциальная ремиссия была достигнута у 12 (24,5%) пациентов, из них в 11 случаях было принято решение о проведении второй линии терапии, после выполнения которой все достигли ПР. У 1 пациента (паттерн С) с парциальной ремиссией, который находился под динамическим наблюдением, была выявлена прогрессия заболевания спустя 3 мес по данным контрольной ПЭТ/КТ.

Таблица 2
Клинические характеристики пациентов с типичными и атипичными паттернами

Table 2
Clinical characteristics of the patients with typical and atypical patterns

Параметр Parameter	Типичный паттерн (n = 21), n (%) Typical pattern (n = 21), n (%)	Атипичный паттерн (n = 28), n (%) Atypical pattern (n = 28), n (%)	Точный критерий Фишера Fisher's exact test
Стадия III–IV Stage III–IV	7 (33,3)	9 (32,1)	H. p. N. s.
Поражение ЛУ средостения Mediastinal lymph node involvement	3 (14,3)	6 (21,4)	H. p. N. s.
Поражение внутрибрюшных ЛУ Abdominal lymph node involvement	4 (19)	6 (21,4)	H. p. N. s.
Экстранодальное поражение Extranodal involvement	0 (0)	2 (7,1)	H. p. N. s.
В-симптомы B symptoms	3 (14,3)	4 (14,2)	H. p. N. s.
Массивное поражение ЛУ (≥ 6 см) Bulky disease (≥ 6 cm)	0 (0) ¹	8 (30,8) ²	$p = 0,00647$
Парциальный ответ, прогрессия Partial response, progressive disease	1 (4,8)	14 (50)	$p = 0,00061$
Рецидив Relapse	1 (4,8)	5 (17,9)	$p = 0,219$

Примечание. H. p. – незначимые различия. ¹ – в группе типичных паттернов у 1 пациента отсутствовали размеры пораженных ЛУ по данным визуализации; ² – в группе атипичных паттернов у 2 пациентов отсутствовала информация о размерах ЛУ по данным визуализации.
Notes. N. s. – a non-significant difference; ¹ – in the group of patients with typical patterns, there were no imaging data on the size of the affected lymph nodes in 1 case; ² – in the group of patients with atypical patterns, 2 patients had there were no imaging data on the size of the affected lymph nodes in 2 cases.

Рисунок 1

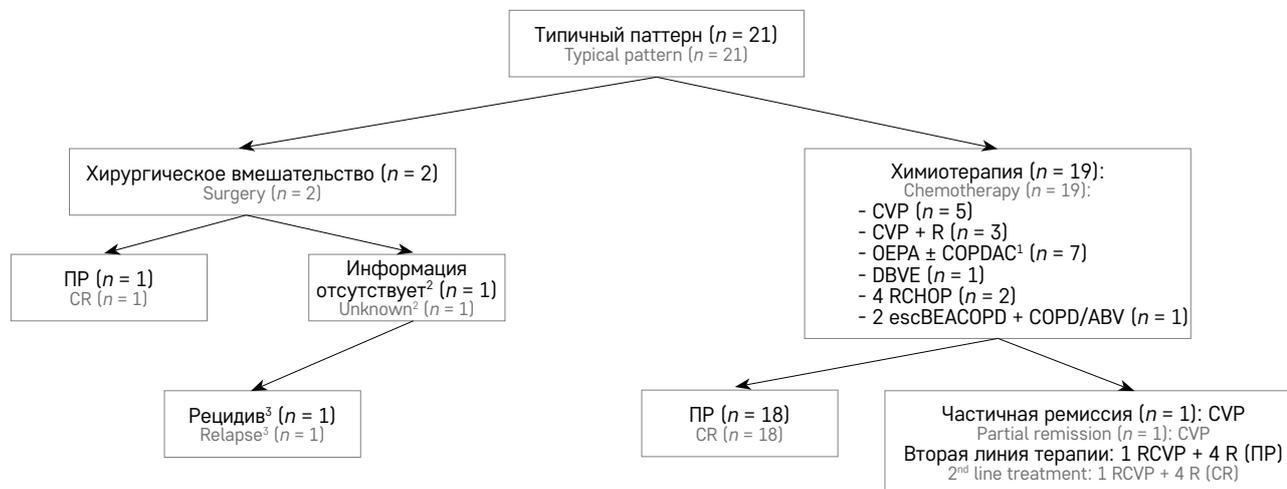
Ответ на терапию у пациентов с типичным паттерном НЛХЛП

¹ – в 5 случаях дополнительно была проведена ЛТ на зоны инициального поражения. Во всех 5 случаях ПР была достигнута до проведения ЛТ; ² – ребенку ошибочно был выставлен диагноз реактивной фолликулярной гиперплазии, дополнительная визуализация не проводилась; ³ – на момент написания статьи пациент не получил терапию

Figure 1

Response to therapy in the patients with a typical nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL)

¹ – in 5 cases, radiation therapy was additionally applied to the areas of initial involvement. In all 5 cases, CR had been achieved before radiation therapy; ² – the child was misdiagnosed with reactive follicular hyperplasia, no additional visualization was performed; ³ – at the time of writing this article, the patient had not received therapy



Прогрессия заболевания на фоне проведения первой линии терапии (3 CVP и 2 OEPА/4 COPDAC) была выявлена у 2 (4,1%) пациентов (паттерны С и А/С/Д соответственно) с дальнейшим достижением ПР после 4 введений ритуксимаба. Также прогрессия была установлена у 1 пациента (паттерн С/Ф) после хирургического лечения при наличии остаточной опухоли (неподтвержденная ПР) по данным ПЭТ/КТ, увеличение ЛУ в зоне инициального поражения было выявлено спустя 2,5 мес от момента проведения эксцизионной биопсии, ремиссия была достигнута при проведении 3 RCVP. В

1 случае (паттерн А) одиночное поражение шейного ЛУ было установлено по данным физикального осмотра и ультразвукового исследования, после выполнения эксцизионной биопсии дополнительная визуализация не проводилась, так как был установлен ошибочный диагноз реактивной фолликулярной гиперплазии. Рецидив развился спустя 60 мес. Статус заболевания с использованием КТ или ПЭТ/КТ после проведенной эксцизионной биопсии также не был известен в 1 случае с установленным диагнозом НЛХЛП, развитие рецидива произошло спустя 6 мес. В общей группе пациентов рецидив заболевания развился в

Рисунок 2

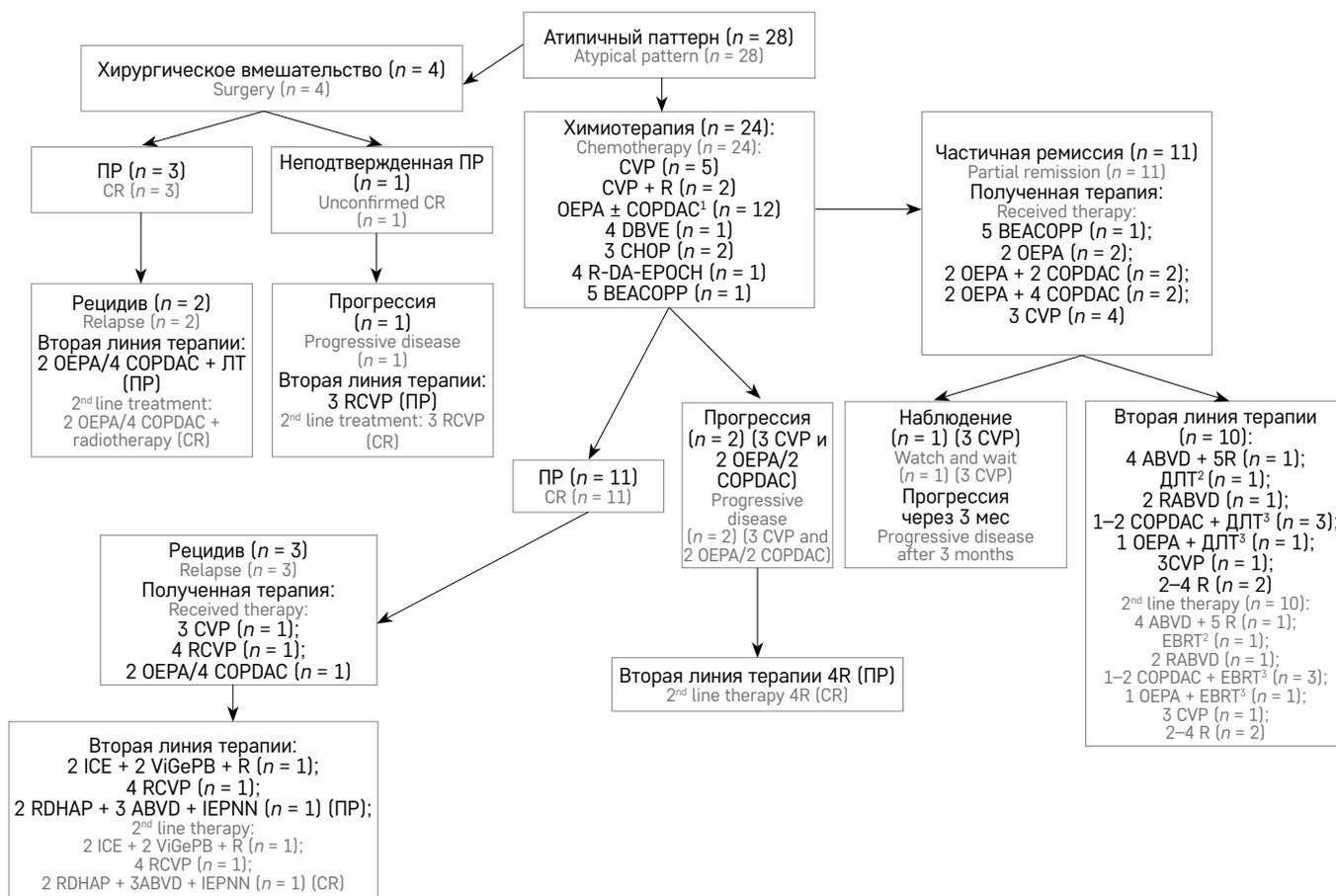
Ответ на терапию у пациентов с атипичным паттерном НЛХЛП

Ауто-ТГСК – аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; ДЛТ – дистанционная ЛТ. ¹ – в 8 случаях дополнительно была проведена ЛТ на зоны инициального поражения, из них 3 пациента достигли ПР до выполнения ЛТ; ² – ДЛТ в суммарной очаговой дозе 18 Гр; ³ – ДЛТ в суммарной очаговой дозе 20 Гр

Figure 2

Response to therapy in the patients with an atypical NLPHL

Auto-HSCT – autologous hematopoietic stem cell transplantation; EBRT – external beam radiation therapy. ¹ – radiation therapy was additionally given to the areas of initial involvement in 8 patients, 3 of them had achieved CR before radiation therapy; ² – EBRT with a cumulative dose of 18 Gy; ³ – EBRT with a cumulative dose of 20 Gy



6 (12,2%) случаях (типичный паттерн: 1/6 vs атипичный паттерн: 5/6), среди них в 5 было отмечено развитие более распространенной стадии (таблица 4). Ранний рецидив (спустя 6 мес после проведенного хирургического лечения) был установлен у 1 ребенка, поздний – у 5 пациентов, период ремиссии составил от 6 до 60 мес (медиана 17,5 мес).

При сравнении 2 групп паттернов между собой с использованием точного критерия Фишера было показано, что у пациентов с атипичными паттернами общий ответ на проводимую терапию был хуже по сравнению с детьми, у которых были установлены типичные паттерны. В группе атипичных паттернов была отмечена более высокая встречаемость парциальной ремиссии и прогрессии заболевания при проведении первой линии терапии (типичный: $n = 1/21$, 4,8% vs атипичный: $n = 14/28$, 50%; $p = 0,00061$). Также отмечалась более высокая частота развития рецидивов в группе атипичных

паттернов, однако статистически значимые различия получены не были (типичный: $n = 1/21$, 4,8% vs атипичный: $n = 5/28$, 17,9%; $p = 0,219$).

Также мы сравнили ответ на проводимую терапию в группе пациентов, получивших CVP ± ритуксимаб ($n = 15$, 30,6%), и в группе детей, получивших ОЕРА ± СОРДАС ($n = 19$, 38,8%).

Так, в группе пациентов, получивших CVP ± ритуксимаб ($n = 15/49$, 30,6%) отмечались различия в частоте неблагоприятных ответов (типичный паттерн: $n = 1/8$, 12,5% vs атипичный паттерн: $n = 5/7$, 71,4%; $p = 0,0405$). Аналогичная тенденция была выявлена и в группе пациентов, получивших терапию по протоколам, включавшим ОЕРА ± СОРДАС (типичный паттерн: $n = 0/7$, 0% vs атипичный паттерн: $n = 7/12$, 58,3%; $p = 0,0174$).

Общая выживаемость составила 100% при медиане наблюдения 28 (3–108) мес.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мы рассмотрели прогностическое значение иммуноархитектурных паттернов НЛХЛП у детей, их влияние на клинические характеристики, ответ на проводимую терапию и риск развития рецидивов.

В нашей когорте была отмечена более высокая частота встречаемости продвинутой стадии (16/49, 32,6%) у детей с НЛХЛП в сравнении с другими работами, среди них IV стадия изначально была выявлена у 2 (13,3%) из 16 пациентов, также у 2 детей IV стадия была выставлена при развитии рецидива. Так, например, в работе Appel и соавт. с самой большой выборкой пациентов детского возраста продвинутая стадия была выявлена в 11 (13,4%) из 82 случаев, среди них у 2 (18,2%) пациентов была установлена IV стадия [22], в другой работе у 6 (10%) из 60 детей была выставлена III стадия, тогда как IV стадия представлена не была [39].

Одним из неблагоприятных исходов является трансформация НЛХЛП в ДКБКЛ, что редко встречается в детской популяции, обусловлено это, вероятно, в том числе и относительно коротким периодом наблюдения, так как дети при достижении 18 лет переходят под наблюдение во взрослую сеть. В работах, выполненных среди взрослых пациентов с НЛХЛП, период до момента трансформации в ДКБКЛ варьировал от 0,35 до 20,3 года при медиане 8,1 года, а частота встречаемости трансформации составила 13,7% ($n = 13/95$) [31]. В детской популяции в литературе представлены единичные случаи. В работе Mauz-Körholz и соавт. трансформация НЛХЛП в ДКБКЛ была выявлена у 1/58 (1,7%) ребенка спустя 10 лет от момента постановки инициального диагноза [33]. Также трансформация НЛХЛП в ДКБКЛ была установлена у 1 ребенка спустя 3 года с момента достижения ПР в работе под руководством Shankar [43]. Описан 1 случай рефрактерного течения НЛХЛП с очаговой трансформацией в ДКБКЛ и с признаками поражения костного мозга уже при инициальном обследовании [43]. Значительно реже ДКБКЛ предшествует НЛХЛП, у 1 пациента из нашей выборки развитию IIIA стадии НЛХЛП предшествовала ДКБКЛ [44].

В нашей работе отмечалась более высокая частота выявления атипичных паттернов ($n = 28/49$, 57,1%) в сравнении с другой работой, выполненной среди детей с НЛХЛП под руководством Shankar [39]. Среди 60 пациентов атипичный паттерн был установлен лишь в 13 (21,7%) случаях. Обусловлено это, вероятно, включением нами в группу атипичных паттернов тех случаев, в которых определялась минорная фракция неблагоприятного паттерна, а также, возможно, тем, что часть случаев

с типичными паттернами могли быть интерпретированы по месту жительства как реактивная фолликулярная гиперплазия или ПТГЦ и, соответственно, не направлены на пересмотр в специализированный референс-центр.

Согласно последним рекомендациям по лечению ранних стадий НЛХЛП у детей (протокол EuroNet-PHL-LP1), для пациентов со II стадией оптимальным объемом терапии является назначение 3 курсов CVP, тогда как для пациентов с I стадией можно ограничиться хирургическим лечением в объеме эксцизионной биопсии при достижении ПР по данным визуализации. При отсутствии достижения ПР или невозможности радикального удаления ЛУ рекомендуется проведение химиотерапии в объеме 3 курсов CVP [28]. Однако ввиду достаточно частого развития рецидивов, особенно ранних, и риска развития продвинутой стадии с трансформацией в ДКБКЛ высказываются опасения по отношению к хирургическому методу лечения. На тему безопасности и оптимальности хирургического метода лечения НЛХЛП выполнено небольшое количество работ, наибольшая выборка представлена 58 пациентами (IA стадия – 54, IIA стадия – 2, IIIA стадия – 2). Достижение ПР хирургическим методом стало возможным у 51 (87,9%) пациента. Рецидив впоследствии развился у 21 (36,2%) пациента, включая все 7 случаев, где изначально не была достигнута ПР, период развития рецидива варьировал от 4 до 120 мес (медиана 11 мес). Стоит также отметить, что общая беспрогрессивная выживаемость составила 57% при медиане наблюдения 50 мес (95% доверительный интервал (ДИ) 42–73) [33]. В нашем исследовании из 6 пациентов, получивших хирургическое лечение в объеме эксцизионной биопсии, рецидив впоследствии развился в 3 случаях (период развития рецидива: 6, 18 и 60 мес), у 1 ребенка увеличение ЛУ в зоне поражения было выявлено спустя 2,5 мес при контрольной КТ, что было расценено как прогрессия. В последнем случае по данным послеоперационной ПЭТ/КТ отсутствовало достижение ПР. Из 3 пациентов, у которых развился впоследствии рецидив, в 2 случаях отсутствовала информация по данным визуализации в постоперационном периоде, что не позволяет с уверенностью говорить о достижении ПР после проведенного хирургического лечения. В 1 случае отсутствие проведения контрольной КТ или ПЭТ/КТ связано с тем, что изначально ребенку был выставлен диагноз реактивной фолликулярной гиперплазии и он находился под наблюдением. Спустя 60 мес возник рецидив в зоне инициального поражения, проведена повторная биопсия и установлен диагноз: НЛХЛП, паттерн А. После чего был проведен пересмотр первичного материала, в результате которого диагноз реактивной фолликулярной гиперплазии был изменен на НЛХЛП, паттерн А.

При хирургическом лечении смена стадии на более продвинутую при возникновении рецидива произошла у всех 3 пациентов, у 1 из которых была установлена IVB стадия с признаками поражения печени и легких. Однако в данном случае развитие распространенной стадии обусловлено длительным периодом бездействия, так как локализованное увеличение пахового ЛУ в месте первичного поражения было замечено спустя 18 мес от момента эксцизионной биопсии, но от дальнейшего лечения был получен отказ. Спустя еще 17 мес отмечено присоединение В-симптомов (зуд, температура, потеря веса) и общее ухудшение состояния ребенка. В связи с подозрением на диссеминацию процесса была выполнена ПЭТ/КТ, по результатам которой были выявлены множественные очаги патологического накопления радиофармпрепарата в над- и поддиафрагмальных ЛУ, а также в печени и легких. Резюмируя вышесказанное, стоит отметить важность постоперационного подтверждения ремиссии с использованием методов КТ или ПЭТ/КТ в целях уменьшения риска развития рецидива, а также важность начала своевременной терапии.

Лечение по протоколу EuroNet-PHL-LP1 с или без добавления ритуксимаба как первую линию терапии в нашем исследовании получили 15 пациентов (рисунки 1, 2), среди которых дополнительно ритуксимаб получили 4 человека. Добавление ритуксимаба в первую линию терапии, вероятно, было обусловлено наличием распространенной IIIA стадии у данных пациентов, тогда как протокол предназначен для ранних стадий [28]. ПР в этой группе была достигнута у 9 (60,0%) пациентов. У 2 детей из этой группы с атипичным паттерном впоследствии развился рецидив (спустя 17 и 27 мес) (таблица 3).

Парциальная ремиссия была достигнута у 5 пациентов (после 3 курсов CVP), среди которых типичный паттерн A/B был выставлен у 1 ребенка. Плохой ответ у пациента с благоприятным паттерном, вероятно, обусловлен распространенной стадией (IIIA) на момент лечения с поражением над-, поддиафрагмальных ЛУ, в том числе внутрибрюшных, а также очаговым поражением селезенки. Достижение ремиссии в данном случае стало возможным благодаря проведению дополнительного курса RCVP с последующим 4-кратным введением ритуксимаба. За период 21 мес ребенок находился в ремиссии, впоследствии связь была утрачена. У 2 детей, получивших 3 курса CVP, была установлена прогрессия заболевания, в одном случае (паттерн C/F) отмечалось увеличение ЛУ на фоне проводимой терапии, во втором случае (паттерн C) после достижения частичной ремиссии спустя 3 мес при проведении контрольной ПЭТ/КТ было выявлено увеличение пораженных ЛУ.

При сравнении 2 групп паттернов было установлено, что в группе атипичных вариантов отмечается более высокая частота плохого ответа на проводимую терапию ($p = 0,0405$), что соотносится с результатами работ зарубежных авторов [39]. Также стоит отметить достаточно высокую эффективность данной терапии у пациентов с НЛХЛП в исследовании Shankar и соавт., проведенном среди 45 пациентов с ранними стадиями. ПР удалось достичь в 36 (80%) случаях [45], среди них 11 были с неподтвержденной ПР. В нашем исследовании отмечалась более низкая частота достижения ПР ($n = 9, 60,0\%$), что, вероятно, обусловлено наличием в выборке продвинутых стадий или более высокой частотой встречаемости неблагоприятных паттернов.

Таблица 3
Терапия пациентов с НЛХЛП

Table 3
Treatment of the patients with NPLHL

Режим химиотерапии Chemotherapy regimen	Число пациентов, n Number of patients, n	Препараты Drugs
OEPA ± COPDAC ± ЛТ OEPA ± COPDAC ± radiotherapy	19	Винкристин, этопозид, преднизолон, доксорубин ± циклофосфамид, винкристин, преднизолон, дакарбазин Vincristine, etoposide, prednisone, doxorubicin ± cyclophosphamide, vincristine, prednisone, dacarbazine
2–4 CVP ± R	15	Циклофосфамид, винбластин, преднизолон ± ритуксимаб Cyclophosphamide, vinblastine, prednisone ± rituximab
3 или 4 CHOP ± R 3 or 4 CHOP ± R	4	Циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизолон ± ритуксимаб Cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone ± rituximab
4 DBVE	2	Доксорубин, блеомицин, винкристин, этопозид Doxorubicin, bleomycin, vincristine, etoposide
5 BEACOPP + 4 ABVD + 5R	1	Блеомицин, этопозид, доксорубин, циклофосфамид, винкристин, прокарбазин, преднизолон + доксорубин, блеомицин, винкристин, дакарбазин + ритуксимаб Bleomycin, etoposide, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine, prednisone + doxorubicin, bleomycin, vincristine, dacarbazine + rituximab
2 escBEACOPP + COPD/ABV	1	Блеомицин, этопозид, доксорубин, циклофосфамид, винкристин, прокарбазин, преднизолон + циклофосфамид, винкристин, дакарбазин/доксорубин, блеомицин, винкристин Bleomycin, etoposide, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine, prednisone + cyclophosphamide, vincristine, dacarbazine/doxorubicin, bleomycin, vincristine
4 R-DA-EPOCH	1	Ритуксимаб, этопозид, винкристин, циклофосфамид, доксорубин Rituximab, etoposide, vincristine, cyclophosphamide, doxorubicin

Схожие результаты были получены в группе пациентов, получивших в качестве первой линии терапии ОЕРА ± СОРДАС ($n = 19$) в зависимости от стадии, из них 13 человек дополнительно получили ЛТ, суммарная очаговая доза которой составила от 18 до 21,6 Гр, вне зависимости от наличия или отсутствия ПР после проведенной химиотерапии. ПР до проведения ЛТ удалось достичь у 12 из 19 пациентов, в 6 случаях была установлена частичная ремиссия, у 1 пациента на фоне проводимой терапии выявлена прогрессия заболевания. Все 7 пациентов имели атипичный паттерн при гистологическом исследовании. Второй линией терапии ПР была достигнута у всех 7 пациентов, у части из них это стало возможным благодаря проведению дополнительных курсов СОРДАС (от 1 до 2) с последующей ЛТ, в 1 случае со стадией IA после 2 курсов ОЕРА было дополнительно проведено 3 курса СVP, у 2 пациентов (IB и IIIA стадии) достижение ПР стало возможным после выполнения ЛТ на инициально пораженные зоны. В исследованиях других авторов также нет единого подхода к лечению и ведению пациентов с НЛХЛП, у которых был отмечен плохой ответ на первую линию терапии [46, 47]. Выбор второй линии терапии, как правило, зависит от опыта лечебного учреждения, в котором ребенок проходит лечение.

Рецидивирующее течение при НЛХЛП встречается достаточно часто, в нашей работе среди

49 пациентов рецидив был выявлен в 6 (12,2%) случаях, период с момента окончания лечения до развития рецидива варьировал от 6 до 60 мес при медиане наблюдения 17,5 мес (таблица 4, среди них 5 пациентов имели атипичный паттерн ($p = 0,219$). Схожие результаты были получены в работах зарубежных авторов, так, например, возникновение рецидива было отмечено в 6 (14,3%) из 42 случаев, время развития рецидива варьировало от 9 до 90 мес, общая медиана наблюдения составила 8,9 (0,7–20,4) года [20], информация по паттернам отсутствовала. В другой работе, посвященной прогностическому значению иммуоархитектурных паттернов, у 4 из 60 пациентов развился рецидив (типичный: $n = 2/13$, 15,4% vs атипичный: $n = 2/47$, 4,3%; $p = 0,20$), общая медиана наблюдения составила 25,8 (7,8–169) мес. Подходы к лечению рецидивов НЛХЛП также сильно отличались, выбор терапии зависел от стадии и опыта медицинского центра, в котором ребенок проходил лечение [46].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашего исследования показали более высокую частоту неблагоприятного ответа на проводимую терапию, а также более высокий риск развития рецидива у пациентов с атипичными паттернами. Полученные данные при дальнейшем изучении

Таблица 4
Клинико-морфологические характеристики рецидивирующих случаев НЛХЛП

Table 4
Clinical and morphological characteristics of recurrent NLPHL cases

№	Паттерн Pat- tern	Ста- дия Stage	Первая линия те- рапии 1 st line treatment	Ответ на терапию Response to treatment	Продолжи- тельность ремиссии, мес Duration of remission, months	Паттерн Pattern	Стадия Stage	Вторая линия те- рапии 2 nd line treatment	Ответ на терапию Response to treatment	Продолжи- тельность ремиссии, мес Duration of remission, months
1	C	IIA	2 ОЕРА/4 СОРДАС + ДЛТ (20 Гр) 2 ОЕРА/4 СОРДАС + EBRT (20 Gy)	ПР CR	13	C/E	IIIA	2 RDHAP + 3 ABVD + IEPNN + ДЛТ (23,4 Гр) 2 RDHAP + 3 ABVD + IEPNN + EBRT (23.4 Gy)	ПР CR	67
2	C/A	IA	Хирургическое вмешательство Surgery	ПР CR	18 ²	C	IVB	2 ОЕРА + 4 СОРДАС + ДЛТ (20 Гр) 2 ОЕРА + 4 СОРДАС + EBRT (20 Gy)	ПР CR	24
3	C/F	IA	Хирургическое вмешательство Surgery	Неизвестно ¹ Unknown ¹	6	C	IIA	2 ОЕРА/4 СОРДАС + ДЛТ (20 Гр) 2 ОЕРА/4 СОРДАС + EBRT (20 Gy)	ПР CR	36
4	C	IIA	3 СVP	ПР CR	17	C	IVA	2 ICE + 2 ViGePB + R + ауто-ТГСК 2 ICE + 2 ViGePB + R + auto-HSCT	ПР CR	22
5	F/E	IIIA	4 RCVP	ПР CR	27	C	IIA	4 RABVD + ДЛТ (20 Гр) 4 RABVD + EBRT (20 Gy)	ПР CR	3
6	A	IA	Хирургическое вмешательство Surgery	Неизвестно ¹ Unknown ¹	60	A	IIA	Неизвестно ³ Unknown ³	Неизвестно ³ Unknown ³	Неизвестно ³ Unknown ³

Примечание. ¹ – постоперационная ПЭТ/КТ или КТ не была выполнена, ответ на терапию неизвестен; ² – увеличение пахового ЛУ в зоне первичного поражения было выявлено впервые спустя 18 мес по данным КТ, получен отказ от проведения биопсии, спустя 17 мес отмечено ухудшение состояния с появлением В-симптомов и развитием стадии IVB; ³ – на момент написания статьи пациент не получал вторую линию терапии.
Notes: ¹ – no CT or PET/CT was performed after lymph node resection, so the response to treatment is unknown; ² – inguinal lymph node enlargement in the area of initial involvement was detected on CT scans after 18 months of remission. The patient's parents did not give their consent to a biopsy, and 17 months later the disease progressed to stage IVB, with the development of B symptoms; ³ – at the time of writing this article, the patient was not undergoing second-line treatment.

могут стать одним из критериев возможной стратификационной шкалы риска для выделения клинических групп в целях подбора наиболее оптимального объема терапии. Это особенно актуально на сегодняшний день ввиду сдвига парадигмы в отношении лечения пациентов с НЛХЛП в сторону деэскалации терапии, которая направлена на уменьшение ее токсичности при сохранении эффективности. Ввиду малой выборки и достаточно короткого периода наблюдения полученные данные носят предположительный характер, что не позволяет сформулировать какие-либо клинические рекомендации по делению пациентов на терапевтические группы. Необходимо

дальнейшее изучение клинического течения НЛХЛП у детей с учетом иммуноархитектурного паттерна.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ 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 <https://orcid.org/0000-0003-3664-2876>

Myakova N.V. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Konovalov D.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7732-8184>

Литература

- Uherova P., Valdez R., Ross C.W., Schnitzer B., Finn W.G. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma: An immunophenotypic reappraisal based on a single-institution experience. *Am J Clin Pathol* 2003; 119 (2): 192–8. DOI: 10.1309/38RK238FCDCH5R22
- Braeuninger A., Küppers R., Strickler J.G., Wacker H.H., Rajewsky K., Hansmann M.L. Hodgkin and Reed-Sternberg cells in lymphocyte predominant Hodgkin disease represent clonal populations of germinal center-derived tumor B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94 (17): 9337–42. DOI: 10.1073/pnas.94.17.9337
- Marafioti T., Hummel M., Anagnostopoulos I., Foss H.D., Falini B., Delsol G. et al. Origin of Nodular Lymphocyte-Predominant Hodgkin's Disease from a Clonal Expansion of Highly Mutated Germinal-Center B Cells. *N Engl J Med* 1997; 337 (7): 453–8. DOI: 10.1056/nejm199708143370703
- Brune V., Tiacchi E., Pfeil I., Döring C., Eckerle S., van Noesel C.J.M., et al. Origin and pathogenesis of nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma as revealed by global gene expression analysis. *J Exp Med* 2008; 205 (10): 2251–68. DOI: 10.1084/jem.20080809
- Falini B., Bigerna B., Pasqualucci L., Fizzotti M., Martelli M.F., Pileri S., et al. Distinctive expression pattern of the BCL-6 protein in nodular lymphocyte predominance Hodgkin's disease. *Blood* 1996; 87 (2): 465–71. DOI: 10.1182/blood.v87.2.465.bloodjournal872465
- Mottok A., Renné C., Willenbrock K., Hansmann M.L., Bräuninger A. Somatic hypermutation of *SOCS1* in lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma is accompanied by high JAK2 expression and activation of STAT6. *Blood* 2007; 110 (9): 3387–90. DOI: 10.1182/blood-2007-03-082511
- Shankar A., Daw S. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma in children and adolescents – a comprehensive review of biology, clinical course and treatment options. *Br J Haematol* 2012; 159 (3): 288–98. DOI: 10.1111/bjh.12055
- Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised 4th ed. IARC: Lyon, France; 2017.
- Nachman J.B., Sposto R., Herzog P., Gilchrist G.S., Wolden S.L., Thomson J., et al. Randomized comparison of low-dose involved-field radiotherapy and no radiotherapy for children with Hodgkin's disease who achieve a complete response to chemotherapy. *J Clin Oncol* 2002; 20 (18): 3765–71. DOI: 10.1200/JCO.2002.12.007
- Punnett A., Tsang R.W., Hodgson D.C. Hodgkin Lymphoma Across the Age Spectrum: Epidemiology, Therapy, and Late Effects. *Semin Radiat Oncol* 2010; 20 (1): 30–44. DOI: 10.1016/j.semradi.2009.09.006
- Schwartz C.L. Special issues in pediatric Hodgkin's disease. *Eur J Haematol Suppl* 2005; 75 (66): 55–62. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2005.00456.x
- Karayalcin G., Behm F.G., Gieser P.W., Kung F., Weiner M., Tebbi C.K., et al. Lymphocyte predominant Hodgkin disease: Clinicopathologic 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-MP01>3.0.CO;2-N
- 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
- Tebbi C.K., Mendenhall N., London W.B., Williams J.L., De Alarcon P.A., Chauvenet A.R. Treatment of stage I, IIA, IIIA1 pediatric Hodgkin disease with doxorubicin, bleomycin, vincristine and etoposide (DBVE) and radiation: A Pediatric Oncology Group (POG) study. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46 (2): 198–202. DOI: 10.1002/pbc.20546
- Chow L.M.L., Nathan P.C., Hodgson D.C., Jenkin D., Weitzman S., Grant R.M., et al. Survival and late effects in children with Hodgkin's lymphoma treated with MOPP/ABV and low-dose, extended-field irradiation. *J Clin Oncol* 2006;

- 24 (36): 5736–41. DOI: 10.1200/JCO.2006.05.6879
16. Alebouyeh M., Moussavi F., Haddad-Deylami H., Vossough P. Successful ambulatory treatment of Hodgkin's disease in Iranian children based on German–Austrian DAL–HD 85–90: Single institutional results. *Ann Oncol* 2005; 16 (12): 1936–40. DOI: 10.1093/annonc/mdi401
 17. Zhen Z., Guo X., Zhu J., Lu S., Sun F., Wang J., et al. Effect of chemotherapy alone with adult chemotherapy regimens on prognosis of children and adolescents with Hodgkin's disease. *Jpn J Clin Oncol* 2016; 46 (7): 667–73. DOI: 10.1093/jjco/hyw051
 18. van den Berg H., Stuve W., Behrendt H. Treatment of Hodgkin's disease in children with alternating mechlorethamine, vincristine, procarbazine, and prednisone (MOPP) and adriamycin, bleomycin, vinblastine, and dacarbazine (ABVD) courses without radiotherapy. *Med Pediatr Oncol* 1997; 29 (1): 23–7. DOI: 10.1002/(SICI)1096-911X(199707)29:1<23::AID-MPO4>3.0.CO;2-U
 19. Xing K.H., Connors J.M., Lai A., Al-Mansour M., Sehn L.H., Villa D., et al. Advanced-stage nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma compared with classical Hodgkin lymphoma: A matched pair outcome analysis. *Blood* 2014; 123 (23): 3567–73. DOI: 10.1182/blood-2013-12-541078
 20. Hall G.W., Katzilakis N., Pinkerton C.R., Nicolin G., Ashley S., McCarthy K., 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
 21. van Grotel M., Lam K.H., de Man R., Beishuizen A., Pieters R., van den Heuvel-Eibrink M.M. High relapse rate in children with non-advanced nodular lymphocyte predominant Hodgkin's lymphoma (NLPHL or nodular paragranuloma) treated with chemotherapy only. *Leuk Lymphoma* 2006; 47 (8): 1504–10. DOI: 10.1080/10428190600573291
 22. Appel B.E., Chen L., Buxton A., Wolden S.L., Hodgson D.C., Nachman J.B. Impact of Low-Dose Involved-Field Radiation Therapy on Pediatric Patients With Lymphocyte-Predominant Hodgkin Lymphoma Treated With Chemotherapy: A Report From the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 59 (7): 1284–9. DOI: 10.1002/pbc.24258
 23. Mauz-Körholz C., Hasenclever D., Dörffel W., Ruschke K., Pelz T., Voigt A., et al. Procarbazine-free OEPA-COPDAC chemotherapy in boys and standard OPPA-COPP in girls have comparable effectiveness in pediatric Hodgkin's lymphoma: The GPOH-HD-2002 study. *J Clin Oncol* 2010; 28 (23): 3680–6. DOI: 10.1200/JCO.2009.26.9381
 24. Willman K.Y., Cox R.S., Donaldson S.S. Radiation induced height impairment in pediatric Hodgkin's disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 28 (1): 85–92. DOI: 10.1016/0360-3016(94)90144-9
 25. Donaldson S.S., Link M.P., Weinstein H.J., Rai S.N., Brain S., Billett A.L., et al. Final results of a prospective clinical trial with VAMP and low-dose involved-field radiation for children with low-risk Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 2007; 25 (3): 332–7. DOI: 10.1200/JCO.2006.08.4772
 26. Lewis G.D., Farach A. Cardiovascular Toxicities of Radiation Therapy. *Methodist Debakey Cardiovasc* 2019; 15 (4): 274–81. DOI: 10.14797/mdcj-15-4-274
 27. Josting A., Wiedenmann S., Franklin J., May M., Sieber M., Wolf J., et al. Secondary myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in patients treated for Hodgkin's disease: A report from the German Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 2003; 21 (18): 3440–6. DOI: 10.1200/JCO.2003.07.160
 28. Mauz-Körholz C., Lange T., Hasenclever D., Burkhardt B., Feller A.C., Dörffel W., et al. Pediatric Nodular Lymphocyte-predominant Hodgkin Lymphoma: Treatment Recommendations of the GPOH-HD Study Group. *Klin Padiatr* 2015; 227 (6–7): 314–21. DOI: 10.1055/s-0035-1559664
 29. Nogová L., Rudiger T., Engert A. Biology, clinical course and management of nodular lymphocyte-predominant hodgkin lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006; 266–72. DOI: 10.1182/asheducation-2006.1.266
 30. 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
 31. Al-Mansour M., Connors J.M., Gascoyne R.D., Skinnider B., Savage K.J. Transformation to aggressive lymphoma in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2010; 28 (5): 793–9. DOI: 10.1200/JCO.2009.24.9516
 32. Pellegrino B., Terrier-Lacombe M.J., Oberlin O., Leblanc T., Perel Y., Bertrand Y., et al. 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. DOI: 10.1200/JCO.2003.01.079
 33. Mauz-Körholz C., Gorde-Grosjean S., Hasenclever D., Shankar A., Dörffel W., Hamish Wallace 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. DOI: 10.1002/cncr.22762
 34. 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: 10.1097/00000478-200310000-00007
 35. Hartmann S., Eichenauer D.A., Plütschow A., Mottok A., Bob R., Koch K., et al. Histopathological features and their prognostic impact in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma – a matched pair analysis from the German Hodgkin Study Group (GHSG). *Br J Haematol* 2014; 167 (2): 238–42. DOI: 10.1111/bjh.12997

36. Hartmann S., Eichenauer D.A., Plütschow A., Mottok A., Bob R., Koch K., et al. 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. DOI: 10.1182/blood-2013-07-515825
37. Gloghini A., Bosco A., Ponzoni M., Spina M., Carbone A. Immunohistochemical patterns in nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma: Pathologic and clinical implications. *Expert Rev Hematol* 2015; 8 (2): 217–23. DOI: 10.1586/17474086.2015.991388
38. Nogová L., Reineke T., Brilliant C., Sieniawski M., Rüdiger T., Josting A., et al. Lymphocyte-predominant and classical Hodgkin's lymphoma: A comprehensive analysis from the German Hodgkin study group. *J Clin Oncol* 2008; 26 (3): 434–9. DOI: 10.1200/JCO.2007.11.8869
39. 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
40. Сенченко М.А., Абрамов Д.С., Насирдинова Г.А., Волчков Е.В., Коновалов Д.М., Мякова Н.В. Клинико-морфологические характеристики нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием у детей. Опыт одного Центра. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2021; 20 (1): 111–20. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-2-111-120 [Senchenko M.A., Abramov D.S., Nasirdinova G.A., Volchkov E.V., Konovalov D.M., Myakova N.V. Nodular lymphocyte-predominant Hodgkin Lymphoma in children. Retrospective clinical and morphological analysis of the patients. One Center experience. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2021; 20 (2): 111–20. (In Russ.)].
41. Prasad M., Narula G., Chinnaswamy G., Arora B., Shet T., Panjwani P., et al. Unfavorable presentation but comparable outcome: Presentation and outcome of children with nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma from India. *Pediatr Blood Cancer* 2018; 65 (10): e27288. DOI: 10.1002/pbc.27288
42. Carbone P.P., Kaplan H.S., Muss-hoff K., Smithers D.W. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res* 1971; 31 (11): 1860–1.
43. Couronné L., Schneider P., Picquet J.M., Laberge S., Bastard C., Vannier 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
44. Сенченко М.А., Абрамов Д.С., Руднева А.Е., Волчков Е.В., Насирдинова Г.А., Гобадзе Д.А. и др. Редкий случай нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием, развившейся через 5 лет после успешного лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2021; 20 (1): 162–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-162-167 [Senchenko M.A., Abramov D.S., Rudneva A.E., Volchkov E.V., Nasirdinova G.A., Gobadze D.A., et al. A rare case of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma, which developed 5 years after successful treatment of diffuse large B-cell lymphoma. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2021; 20 (1): 162–7. (In Russ.)].
45. 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. DOI: 10.1016/j.ejca.2011.10.018
46. Shankar A.G., Kirkwood A.A., Depani S., Bianchi E., Hayward J., Ramsay A.D., Hall G.W. 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): 421–31. DOI: 10.1111/bjh.13979
47. Klekawka T., Balwierz W., Brozyna A., Chaber R., Dadel-Urbaneck A., Koltan A., et al. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma: Experience of Polish Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Pediatr Hematol Oncol* 2021; 38 (7): 609–19. DOI: 10.1080/08880018.2021.1894278

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-37-44

Результаты исследования эффективности и безопасности применения вемурафениба в сочетании с комбинированной терапией цитарабином/2-хлор-2'-дезоксиденозином у пациентов с гистиоцитозом из клеток Лангерганса с наличием мутации V600E гена *BRAF*

Э.И. Людовских¹, Д.А. Евсеев¹, Д.С. Осипова¹, Е.В. Райкина¹, И.И. Калинина¹, Д.Д. Байдильдина¹, А.М. Попов¹, Е.А. Бурцев², Г.О. Бронин², О.С. Финк³, Б.Б. Пурбуева³, Е.А. Пристанскова³, А.А. Масчан¹, М.А. Масчан¹

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

²ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

³Российская детская клиническая больница – филиал ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», Москва

В работе представлен новый протокол терапии пациентов с *BRAF*-позитивным гистиоцитозом из клеток Лангерганса (ГКЛ). В целях достижения ремиссии использовалась комбинация вемурафениба (таргетный препарат) и цитарабина (Ara-C) с кладрибином (2-CdA). В исследование вошли 27 пациентов, у 18 из них была установлена мультисистемная форма ГКЛ с поражением органов риска (RO+), у 9 – мультисистемная форма без вовлечения органов риска (RO–). Терапия начиналась с 28-дневного приема вемурафениба, после чего он отменялся. На 29-е сутки начинался блок полихимиотерапии Ara-C + 2-CdA №1. Прием вемурафениба возобновлялся на +1-е сутки после блока Ara-C + 2-CdA. Интервал между блоками – 28 дней. В таком же режиме проводились последующие 2 блока химиотерапии Ara-C + 2-CdA – №2 и №3. Затем прием вемурафениба прекращался, после чего следовали 3 курса 2-CdA в монорежиме. У всех пациентов наблюдался быстрый ответ на проводимую терапию: на 28-е сутки значение по шкале активности заболевания снизилось с 15 до 2 баллов в группе RO+ и с 4 до 0 баллов в группе RO–. Двухлетняя безрецидивная выживаемость в группе RO+ составила 82% (95% доверительный интервал 66–100), в группе RO– она достигла 89% (95%, доверительный интервал 71–100). Общая выживаемость в обеих группах составила 100%. Данное исследование демонстрирует, что комбинация вемурафениба и промежуточных доз 2-CdA и Ara-C безопасна и эффективна у детей с мультисистемной формой RO+ и рефрактерных ГКЛ. Данное проспективное многоцентровое нерандомизированное исследование было одобрено независимым этическим комитетом (протокол №3е/1-18) и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Исследование зарегистрировано на сайте Clinicaltrials.gov, номер NCT03585686. Первый пациент был включен в исследование 22.06.2018, дата окончания сбора данных – 30.04.2023.

Ключевые слова: гистиоцитоз из клеток Лангерганса, мультисистемная форма, рефрактерность, органы риска, вемурафениб, цитарабин, кладрибин

Людовских Э.И. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 37–44. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-37-44

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 27.04.2023

Принята к печати 16.01.2024



EDN: BRBPDO

Контактная информация:

Людовских Эвелина Игоревна, врач-детский онколог отделения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток №2 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: evcola@yandex.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 27.04.2023

Accepted 16.01.2024

The results of a study on the effectiveness and safety of treatment with vemurafenib and cytarabine/2-chloro-2'-deoxyadenosine combination in patients with Langerhans cell histiocytosis with *BRAFV600E* mutation

E.I. Lyudovskikh¹, D.A. Yevseyev¹, D.S. Osipova¹, E.V. Raykina¹, I.I. Kalinina¹, D.D. Baydildina¹, A.M. Popov¹, E.A. Burtsev², G.O. Bronin², O.S. Fink³, B.B. Purbuyeva³, E.A. Pristanskova³, A.A. Maschan¹, M.A. Maschan¹

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

²The Morozov Children's City Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow

³Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Evelina I. Lyudovskikh,
a pediatric oncologist at the Department
of Hematopoietic Stem Cell Transplantation
№2 at the Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology of Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: evcola@yandex.ru

Here, we report on a new treatment protocol for patients with *BRAF*-positive Langerhans cell histiocytosis (LCH). To achieve remission in the affected patients, we used vemurafenib (a targeted drug) in combination with cytarabine (Ara-C) and cladribine (2-CdA). The study included 27 patients: 18 children with multisystem LCH with risk organ involvement (RO+) and 9 – with multisystem LCH without risk organ involvement (RO-). The treatment started with a 28-day cycle of vemurafenib, with subsequent discontinuation. On Day 29, Ara-C + 2-CdA chemotherapy cycle №1 was initiated. Vemurafenib treatment was again started on Day +1 after the Ara-C + 2-CdA cycle. The interval between the cycles was 28 days. Similarly, the next two Ara-C + 2-CdA chemotherapy cycles (№2 and №3) were carried out. Then therapy with vemurafenib was stopped and 3 cycles of 2-CdA were administered. All the patients responded to the treatment quickly: on Day 28, disease activity score decreased from 15 to 2 in the RO+ group and from 4 to 0 in the RO- group. The two-year relapse-free survival in the RO+ group was 82% (95% confidence interval 66–100), and 89% (95% confidence interval 71–100) in the RO- patients. The overall survival in both groups was 100%. Our study demonstrates the safety and effectiveness of the treatment with vemurafenib and intermediate-dose 2-CdA and Ara-C in children with multisystem RO+ and refractory LCH. This prospective non-randomized multicenter study was approved by the Independent Ethics Committee (Minutes No. 3e/1-18) and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. It is registered at clinicaltrials.gov under the number NCT03585686. The first patient was enrolled on 22 June 2018, the data collection was stopped on 30 April 2023.

Key words: Langerhans cell histiocytosis, multisystem disease, refractory disease, risk organs, vemurafenib, cytarabine, cladribine

Lyudovskikh E.I., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 37–44.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-37-44

Листиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ) – заболевание, которое характеризуется аномальной пролиферацией и накоплением в органах и тканях клеток, фенотипически схожих с обычными клетками Лангерганса. Это приводит к избыточному разрастанию, локальному повреждению и нарушению функции пораженных органов. Широко известно, что у 50–60% пациентов с ГКЛ в патологическом субстрате выявляется соматическая мутация *BRAFV600E* [1, 2]. Согласно последним данным Y. Xiao и соавт. (2020), патологический клон присутствует в костном мозге пациентов и с мультисистемными, и с моносистемными формами заболевания, а различия в клинических проявлениях объясняются разным соотношением клеточных популяций, несущих мутацию, в различных миелоидных предшественниках [3]. Примечательно, что *BRAFV600E*-положительный ГКЛ показал высокую частоту рецидивов и тенденцию к поражению органов риска (risk organs, RO) [4].

В то время как моносистемные формы могут разрешаться без терапии, поражение RO (RO+), к которым относятся система кровотока, селезенка и печень, связано с неблагоприятным прогнозом.

Учитывая разные формы и множество проявлений заболевания, терапия ГКЛ не может быть универсальной. На данный момент в большинстве случаев лечение проводится по протоколу Международного гистиоцитарного сообщества LCH-IV. Историческая 5-летняя выживаемость у пациентов с RO+ составляет менее 50%. «Терапия спасения» 2-хлор-2'-де-

зоксиаденозином (кладрибин, 2-CdA) в дозе 9 мг/м²/сут в течение 5 дней и цитозин-арабинозидом (Ara-C) в дозе 1000 мг/м²/сут в течение 5 дней достаточно эффективна в качестве второй линии для пациентов с RO+, однако связана с тяжелой токсичностью, что ограничивает ее применение [5, 6]. Общепринятой стратегии терапии третьей линии ни для одной из групп пациентов на данный момент не существует.

Учитывая роль *BRAFV600E* в патогенезе ГКЛ, для лечения пациентов с выявленной мутацией стали применяться таргетные препараты (например, вемурафениб). Терапия вемурафенибом оказалась высокоэффективной как в случае RO+, так и при рефрактерном течении ГКЛ. Однако при дальнейшем наблюдении обнаружилась главная на сегодняшний день сложность: при попытке отмены препарата отмечаются быстрое ухудшение общего состояния и реактивация/рецидив заболевания.

Основываясь на успешном использовании таргетной терапии вемурафенибом и доказанном терапевтическом потенциале комбинации химиопрепаратов 2-CdA/Ara-C, была выдвинута гипотеза, что сочетание данных методов лечения возможно и потенциально эффективно, а при снижении дозы можно добиться уменьшения токсичности. Безопасность комбинации наблюдалась в предыдущем ретроспективном исследовании [7], в данной статье представлены результаты исследования. Частично данная когорта упоминалась в статье D. Evseev и

соавт. [8], однако значительный рост числа пациентов и времени наблюдения по сравнению с предыдущей группой обуславливает значимость данной публикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За период с 2018 по 2023 г. в исследование вошли 27 пациентов (15 мальчиков и 12 девочек) с *BRAFV600E*-позитивным ГКЛ. Из них у 18 пациентов была установлена мультисистемная форма ГКЛ RO+, у 9 пациентов – мультисистемная форма без вовлечения RO (RO–). У всех пациентов диагноз был подтвержден по результатам биопсии с обязательным иммуногистохимическим окрашиванием на CD1a⁺/CD207⁺. Мутация *BRAFV600E* в биоптате была обнаружена и подтверждена секвенированием по Сэнгеру.

Средний возраст манифестации заболевания составил 10 (0–22) месяцев в группе RO+ и 20 (1–43) месяцев в группе RO–. Средний возраст на момент включения в протокол составил 17 (4–39) месяцев в группе RO+ и 51 (2–107) месяц в группе RO– (таблица). Пациенты получали протокольную терапию в качестве первой ($n = 7$, 25,9%), второй ($n = 8$, 29,6%), третьей ($n = 10$, 37%) или четвертой ($n = 2$, 7%) линии. Ни один из пациентов ранее не получал таргетную терапию.

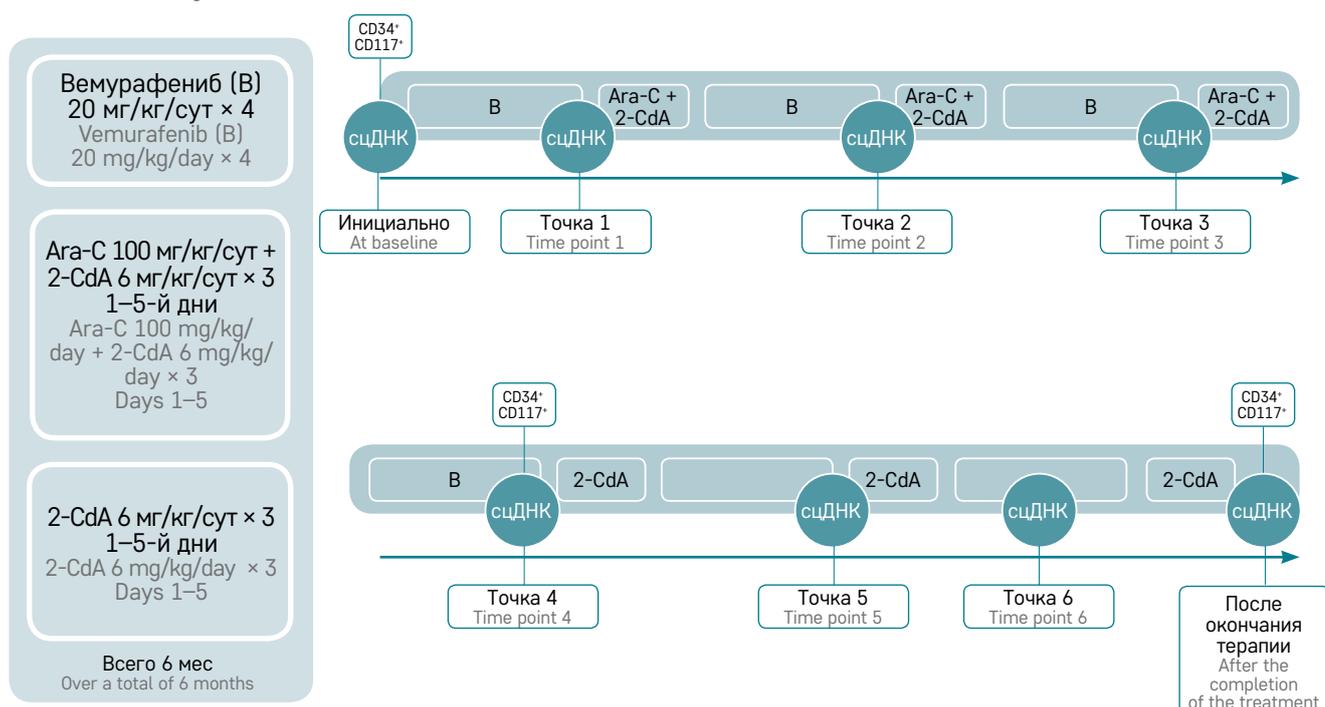
Первичная оценка статуса пациентов проводилась на 0-е сутки, т. е. перед началом терапии (мини-

Рисунок 1

Схема протокола терапии комбинацией вемурафениба с Ara-C и 2-CdA сцДНК – свободно циркулирующая ДНК

Figure 1

A protocol of combination treatment with Vemurafenib and Ara-C and 2-CdA сцДНК – circulating cell-free DNA



мальная остаточная болезнь (МОБ), точка 0). Терапия начиналась с 28-дневного приема вемурафениба. Все пациенты получали вемурафениб в дозе примерно 20 мг/кг/сут перорально в округлении до целой капсулы (240 мг). На 28-е сутки оценивалась эффективность терапии таргетным препаратом (МОБ, точка 1), после чего он отменялся. На 29-е сутки начинался блок полихимиотерапии Ara-C + 2-CdA №1 (рисунок 1). Прием вемурафениба возобновлялся на +1-е сутки после блока Ara-C + 2-CdA. Интервал между блоками – 28 дней. В таком же режиме проводились последующие 2 блока химиотерапии

Таблица

Характеристика пациентов, включенных в исследование

Table

Characteristics of the enrolled patients

Параметр Parameter	Мультисистемная форма ГКЛ RO+ (n = 18) Multisystem LCH with risk organ involvement (RO+) (n = 18)	Мультисистемная форма ГКЛ RO– (n = 9) Multisystem LCH without risk organ involvement (RO–) (n = 9)
Соотношение по полу, мальчики:девочки Male to female ratio	10:8	5:4
Возраст на момент манифестации заболевания, месяцы Age at disease onset, months	10 (0–22)	20 (1–43)
Возраст на момент начала протокола, месяцы Age at the time of treatment initiation, months	17 (4–39)	51 (2–107)

Ага-С + 2-CdA – №2 и №3 (МОБ, точки 2 и 3). Перед началом лечения 2-CdA в монорежиме производилась оценка эффективности предшествующей терапии (МОБ, точка 4) с выполнением костномозговой пункции и определением мутации *BRAFV600E* на миелоидных предшественниках (отсортированных *CD34⁺CD117⁺*-клетках). Прием вемурафениба завершался, дальнейшие блоки монотерапии 2-CdA проводились с интервалом в 28 дней.

Общая запланированная продолжительность всех курсов терапии составила 6 мес.

МОБ измеряли в конкретных, заранее определенных точках (перед началом терапии, перед началом каждого курса и в конце лечения) с помощью методики цифровой капельной полимеразной цепной реакции (цкПЦР) в сцДНК, полученной из периферической крови. В точках 0, 4 и после окончания терапии проводились костномозговые пункции в целях получения популяции *CD34⁺CD117⁺*, аллельная нагрузка *BRAFV600E* в которой также оценивалась методом цкПЦР.

Данное проспективное многоцентровое нерандомизированное исследование было одобрено независимым этическим комитетом (протокол №3е/1-18) и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Исследование зарегистрировано на сайте [Clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov), номер NCT03585686. Первый пациент был включен в исследование 22.06.2018, дата окончания сбора данных – 30.04.2023.

Активность заболевания количественно оценивалась с использованием шкалы активности заболевания (DAS), описанной J. Donadieu и соавт. [9], и шкалы оценки, используемой в когорте высокого риска в международном протоколе LCH-IV.

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения XLSTAT 2021.2.2 и R 4.0.2. Метод Каплана–Майера применялся для оценки общей выживаемости, безрецидивной выживаемости (RFS), медиана наблюдения измерялась с использованием обратного метода Каплана–Майера [10]. U-критерий Манна–Уитни использовался для сравнения МОБ между группами, а знаково-ранговый критерий Уилкоксона – для сравнения МОБ между временными точками.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Констатация ответа

В группе с мультисистемной формой RO+ медиана значения по DAS перед началом терапии составляла 15 (6–24) баллов, тогда как в группе с мультисис-

темной формой RO– данный показатель был равен 4 (1–6) баллам.

Все пациенты успешно ответили на индукционную терапию вемурафенибом. Медиана значения по DAS снизилась с 15 до 2 (0–2) баллов в группе с мультисистемной формой RO+ и с 4 до 0 (0–1) баллов в группе RO– на 28-й день от начала приема вемурафениба. К концу терапии вемурафенибом (перед первым курсом монотерапии 2-CdA) все пациенты ответили на лечение как по DAS (0 баллов у всех пациентов), так и по стандартной системе оценки Международного гистиоцитарного сообщества (неактивное заболевание у всех пациентов).

В инициальной точке медиана аллельной нагрузки в сцДНК в группе RO+ составила 5,3% (0,63–30,91%), а в миелоидных предшественниках – 0,79% (0,3–4,84%). В группе RO– медиана аллельной нагрузки в сцДНК составила 0,62% (0–8,6%), в миелоидных предшественниках – 0% (0–0,56%).

Снижение аллельной нагрузки в сцДНК отражало эффективность терапии вемурафенибом: медиана аллельной нагрузки *BRAFV600E* в сцДНК на 28-й день составила 1,51% (0–9,56%) и 0% (0–2,78%) в группах RO+ и RO– соответственно (рисунки 2).

После 3 курсов Ага-С + 2-CdA (точка 4) измерение МОБ проводили в сцДНК и миелоидных предшественниках (*CD34⁺CD117⁺*). По сравнению с исходными значениями нагрузка резко снизилась у всех пациентов: в группе RO+ медиана аллельной нагрузки *BRAFV600E* в сцДНК составила 0,17% (0–1,18%), в *CD34⁺CD117⁺* – 0% (0–0,2%); в группе RO– медиана аллельной нагрузки *BRAFV600E* в сцДНК составила 0% (0–0,56%), в миелоидных предшественниках – 0% (0–0,1%).

Безрецидивная и общая выживаемость

На момент написания статьи все пациенты остаются живы, у 23 из них не наблюдается прогрессии/рецидива заболевания. Двухлетняя RFS для группы с мультисистемной формой RO+ составила 82% (95% доверительный интервал (ДИ) 66–100), медиана наблюдения – 27 мес (максимальный срок наблюдения 54 мес). Двухлетняя RFS в группе с мультисистемной формой RO– составила 89% (95% ДИ 71–100), медиана наблюдения – 31 мес (максимальный период наблюдения 42 мес). Общая выживаемость в обеих группах составила 100% (рисунки 3).

У 4 пациентов (3 RO+ и 1 RO–) был выявлен рецидив основного заболевания. Временной промежуток возникновения рецидива – примерно через 2 (1–8) мес после отмены вемурафениба. У 3 пациентов рецидив возник сразу после монотерапии 2-CdA, у 1 – через 4 мес после завершения протокола. У 1 пациента был диагностирован мультисистемный рецидив RO+, у остальных детей – локальный рецидив (2 – кости, 1 – кожа).

Рисунок 2
Алельная нагрузка мутации *BRAFV600E* в разных точках терапии

Figure 2
The allele burden of the *BRAFV600E* mutation at different treatment time points

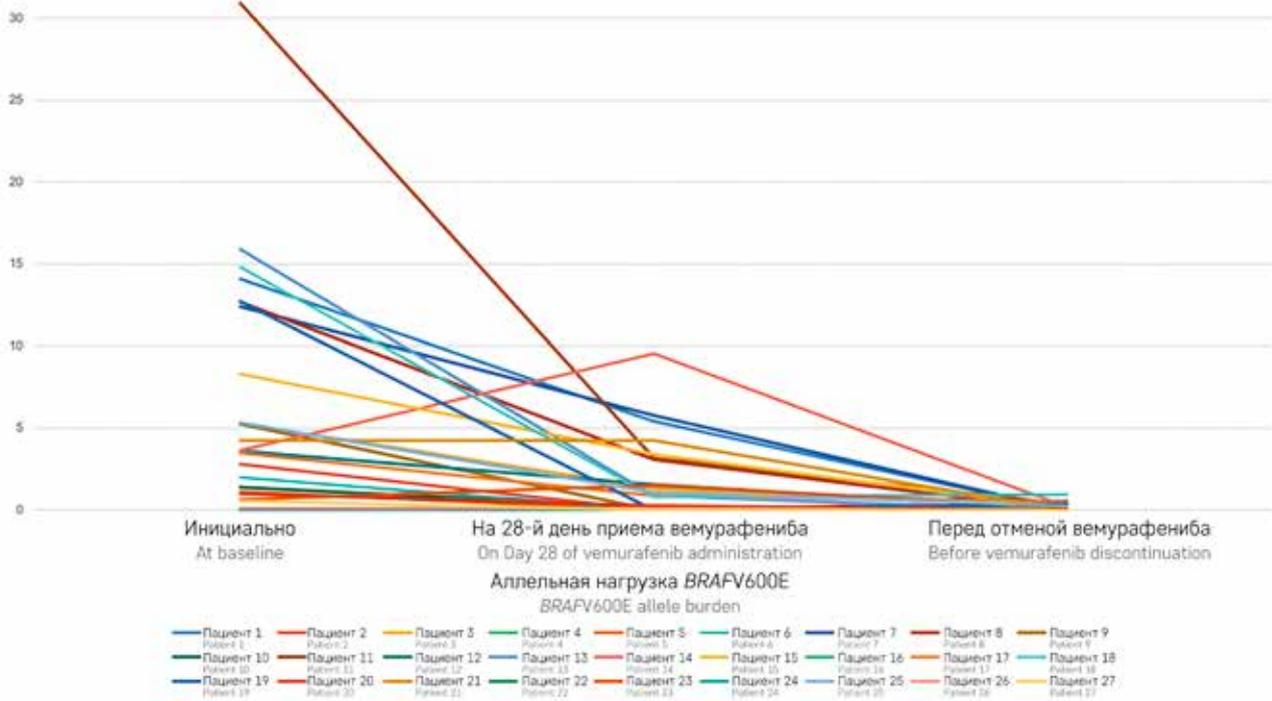
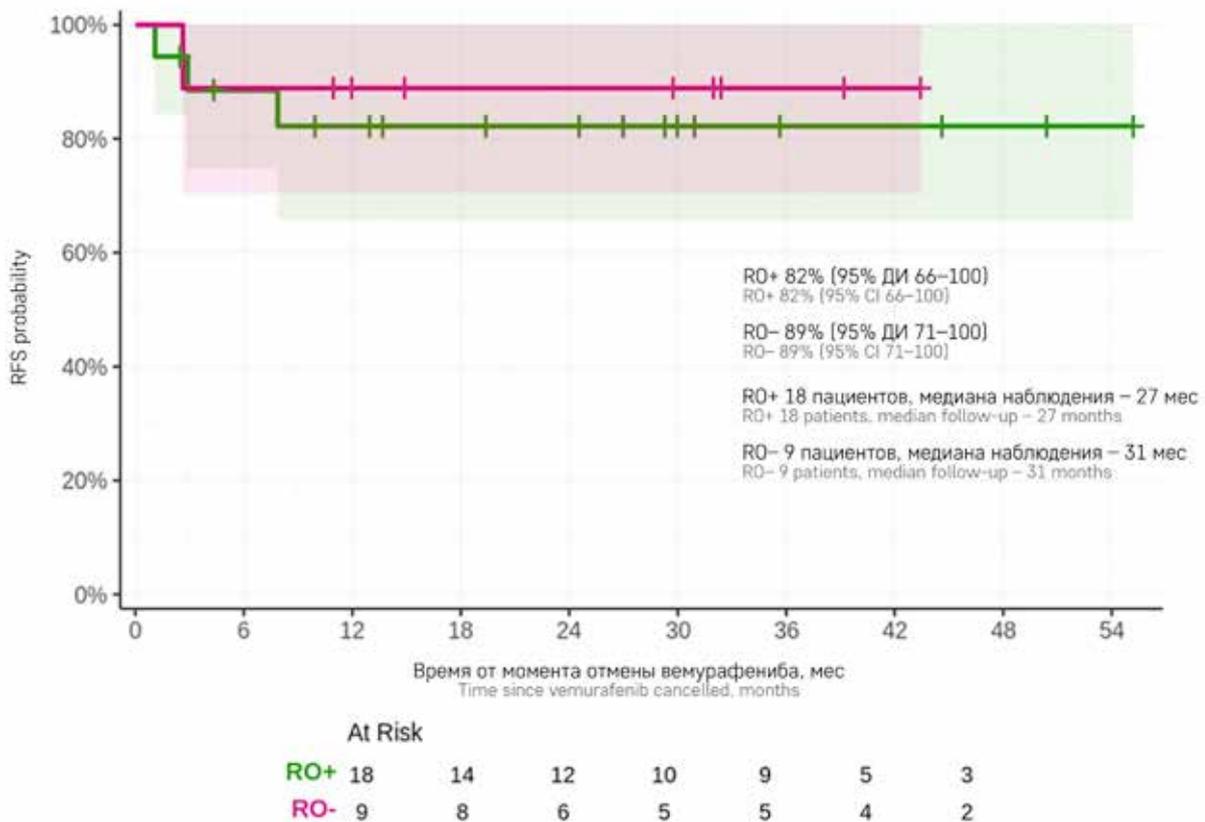


Рисунок 3
Кривые 2-летней RFS у пациентов с мультисистемной формой ГКЛ RO+ и RO-

Figure 3
Two-year relapse-free survival (RFS) curves in the patients with multisystem LCH RO+ and RO-



Вемурафениб был повторно назначен всем пациентам с рецидивами под контролем измерения мутационной аллельной нагрузки как в сцДНК, так и в отсортированной популяции миелоидных предшественников CD34⁺CD117⁺ из костного мозга. Аллельная нагрузка мутации BRAFV600E в сцДНК и миелоидных предшественниках стала отрицательной у 2 из 4 пациентов. Один пациент продолжает получать длительную терапию вемурафенибом, у второго впоследствии была отмечена парадоксальная резистентность, что потребовало замены препарата на ингибитор MEK [8].

У 1 пациента отмечено развитие миелодиспластического синдрома через 14 мес после прекращения терапии вемурафенибом. При проведении цитогенетического исследования выявлена делеция 7q хромосомы. У пациента наблюдалась умеренная тромбоцитопения (до 80 тыс/мкл). Следующим этапом терапии планируется проведение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от полностью совместимого родственного донора.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Стандартный подход к терапии ГКЛ включает в себя комбинацию винбластина и преднизолона, применяемую в течение минимум 1 года [11]. К сожалению, хотя данный режим эффективен в большинстве случаев, он не может предотвратить высокую частоту рецидивов среди пациентов группы R0⁻ и недостаточен для пациентов группы R0⁺. Комбинация Ara-C + 2-CdA, используемая в высоких дозах, эффективна у значительной части пациентов группы R0⁺, рефрактерных к винбластину и преднизолону, но высокая токсичность данной комбинации, сильная предлеченность и тяжелый статус пациентов перед началом такого режима препятствуют его более широкому использованию [5]. В исследовании D.A. Rosso и соавт. промежуточные дозы Ara-C и 2-CdA у 9 пациентов группы R0⁺ привели к 3-летней общей выживаемости, равной 76% [12].

Терапия BRAF-ингибиторами у пациентов с доказанной мутацией может быть длительной и эффективной. Однако при попытке отмены препарата отмечаются крайне быстрое ухудшение общего состояния и реактивация/рецидив заболевания. Однажды начатая терапия ингибиторами является постоянной и жизненно необходимой, но не приводящей к излечению. В настоящее время не существует успешных стратегий прекращения подобной терапии.

Между тем растет беспокойство по поводу будущего пациентов, получающих терапию вемурафенибом в течение длительного времени. Существуют разрозненные сообщения о клональной и

биологической эволюции болезни [13, 14], являющиеся первыми тревожными сигналами, с которыми мы можем столкнуться в будущем. Клональная пролиферация, переключение или вторичная трансформация при длительном ингибировании BRAF показаны, например, при меланоме [15]. Однако наиболее тревожными являются данные о растущем числе первично диагностированных поражений центральной нервной системы у пациентов на длительной терапии ингибиторами (данные J. Donadieu и соавт., не опубликованы). Это дополняется отсутствием данных об отдаленном побочном воздействии BRAF-ингибиторов на различные органы и системы.

Учитывая все вышеописанное, цель данного исследования состоит в том, чтобы показать, что терапевтический потенциал химиотерапии (Ara-C и 2-CdA) и успех применения вемурафениба могут быть объединены в целях создания единой эффективной и менее токсичной схемы терапии. На основании предыдущих исследований и опубликованных данных [7, 8, 16] в нашей работе рассматривается комбинация вемурафениба с промежуточными дозами Ara-C и 2-CdA.

Все пациенты кроме одного полностью завершили протокол. Примечательно также то, что единственный пациент, добровольно не принимающий поддерживающую терапию, остался в полной ремиссии. Токсичность вемурафениба была незначительной, тогда как химиотерапия ассоциировалась с ожидаемой степенью миелосупрессии. Бремя инфекционных осложнений и нужда в сопроводительной терапии были значительно ниже, чем аналогичные при высоких дозах Ara-C + 2-CdA, а медианное время нейтропении было примерно в 3 раза короче, чем у J. Donadieu и соавт. (8 дней против 23 дней соответственно) [5].

У всех пациентов с мультисистемной формой R0⁺ вемурафениб приводил к молниеносному полному восстановлению функции костного мозга и печени. Вкупе с очень высокой медианой баллов по шкале DAS у пациентов группы R0⁺ это делает индукционную фазу критически важной частью протокола, позволяющей стабилизировать даже самые тяжелые, критические случаи.

Терапия вемурафенибом оказалась высокоэффективной, что подтверждают предыдущие сообщения. Основываясь на продолжающейся неподдерживаемой ремиссии примерно у 80% пациентов, что намного выше, чем в предыдущих отчетах [7, 17], наши результаты позволяют предположить, что предлагаемая схема может быть излечивающей в значительной части случаев. Пациенты наблюдались в среднем в течение 27 мес после прекращения приема вемурафениба, что, учитывая медиану времени до рецидива, равную 2 мес, кажется нам достаточным

для выводов об эффективности терапии. Кроме того, следует отметить, что, согласно недавним публикациям [7, 17], рецидивы ГКЛ развивались в среднем через 1 мес после отмены монотерапии вемурафенибом. Общая продолжительность лечения была существенно короче любых общепринятых линий терапии.

Возможные механизмы излечения при использовании данной комбинированной схемы до сих пор не до конца понятны. Маловероятно, что 2-CdA и Aга-C в дозах, использованных в этом исследовании, могут уничтожить клон миелоидных предшественников, несущий мутацию, особенно учитывая, что даже кондиционирование перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток часто не может этого сделать [18]. Лимфодеплеция вследствие химиотерапии и «перезагрузка» иммунного ответа должны быть дополнительно изучены как потенциальный механизм иммунного надзора над мутантными клетками.

Наши данные подтверждают, что мониторинг мутантного гена *BRAF* с помощью цкПЦР в сцДНК является ценным методом оценки ответа на проводимую терапию и может служить суррогатной методикой измерения МОБ. Впрочем, важно оговориться, что в рамках данного исследования никаких клинических решений на основе измерения МОБ не принималось. Аллельная нагрузка *BRAFV600E* в сцДНК в большинстве коррелировала с тяжестью заболевания и клиническим ответом на терапию.

По данным J. Donadieu и соавт. [17], отмена вемурафениба более безопасна у пациентов, достигших нуля при мониторинге аллельной нагрузки в популяции миелоидных предшественников. Как правило, аллельная нагрузка *BRAFV600E* коррелирует с исходным статусом заболевания и значительно снижается во время терапии. Следует отметить, что единственный пациент с рецидивом группы R0+ имел самый высокий уровень аллельной нагрузки в миелоидных предшественниках среди всех пациентов (0,2% на момент прекращения терапии вемурафенибом и 1% при рецидиве). Однако общая успешность применения данной схемы и низкая частота рецидивов не позволяют сделать выводы о максимальной аллельной нагрузке, необходимой для безопасного прекращения терапии.

Важно оговориться, что данное исследование имеет определенные ограничения, которые следует учитывать. Во-первых, когорта пациентов относительно небольшая, даже учитывая редкость поражений R0 при ГКЛ. Во-вторых, хотя применение

цкПЦР показало многообещающие результаты, на природу метода могут влиять многие процессы, не имеющие отношения к течению заболевания (например, неспецифический распад зондов), что может приводить к искажению результатов. Также мы не включили в исследование ни одного пациента с поражением центральной нервной системы или склерозирующим холангитом. Это не было сделано намеренно, однако, мы полагаем, что такие пациенты получают больше пользы от иного, персонализированного терапевтического подхода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование предоставило первые проспективные доказательства совершенно нового терапевтического подхода к лечению ГКЛ групп высокого риска и рефрактерных форм. Мы полагаем, что среди когорты R0+ данная схема терапии может использоваться в качестве терапии первой линии.

Данное исследование демонстрирует, что комбинация вемурафениба и промежуточных доз 2-CdA и Aга-C безопасна в когорте детей с мультисистемной формой R0+ и рефрактерных ГКЛ. У большинства пациентов достигнута ремиссия заболевания. Если представленные результаты подтвердятся в более крупном исследовании с длительным периодом наблюдения, такой подход может стать стандартом в лечении наиболее сложных форм ГКЛ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда, проект №22-15-00450

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Lyudovskikh E.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0717-2019>

Evseev D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8610-0624>

Osipova D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9968-9332>

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

Kalinina I.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0813-5626>

Baidildina D.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7130-8596>

Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>

Burtsev E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3623-6547>

Bronin G.O. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0694-3996>

Fink O.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1336-9379>

Purbueva B.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3698-4462>

Pristanskova E.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4569-657X>

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

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

Литература

- Badalian-Very G., Vergilio J.-A., Degar B.A., MacConaill L.E., Brandner B., Calicchio M.L., et al. Recurrent *BRAF* mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2010; 116 (11): 1919–23. DOI: 10.1182/blood-2010-04-279083
- Bigenwald C., Le Berichel J., Wilk C.M., Chakraborty R., Chen S.T., Tabachnikova A., et al. *BRAF*V600E-induced senescence drives Langerhans cell histiocytosis pathophysiology. *Nat Med* 2021; 27 (5) 851. DOI: 10.1038/s41591-021-01304-x
- Xiao Y., van Halteren A.G.S., Lei X., Borst J., Steenwijk E., de Wit T., et al. Bone marrow-derived myeloid progenitors as driver mutation carriers in high- And low-risk Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2020; 136 (19): 2188–199. DOI: 10.1182/blood.2020005209
- Héritier S., Emile J.F., Barkaoui M.A., Thomas C., Fraitag S., Boudjemaa S., et al. *BRAF* Mutation Correlates With High-Risk Langerhans Cell Histiocytosis and Increased Resistance to First-Line Therapy. *J Clin Oncol* 2016;34(25):3023–30. DOI: 10.1200/JCO.2015.65.9508
- Donadieu J., Bernard F., van Noesel M., Barkaoui M., Bardet O., Mura R., et al. Cladribine and cytarabine in refractory multisystem Langerhans cell histiocytosis: Results of an international phase 2 study. *Blood* 2015; 126 (12): 1415–23. DOI: 10.1182/blood-2015-03-635151
- Solopova G., Baidildina D., Suntsova E., et al. Front-line therapy of high-risk Langerhans cell histiocytosis with 2 chlordeoxyadenosine and cytosine arabinoside: an update of a single center experience. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 55 (5).
- Evseev D., Kalinina I., Raykina E., Osipova D., Abashidze Z., Ignatova A., et al. Vemurafenib provides a rapid and robust clinical response in pediatric Langerhans cell histiocytosis with the *BRAF* V600E mutation but does not eliminate low-level minimal residual disease per ddPCR using cell-free circulating DNA. *Int J Hematol* 2021; 114 (6): 725–34. DOI: 10.1007/s12185-021-03205-8
- Evseev D., Osipova D., Kalinina I., Raykina E., Ignatova A., Lyudovskikh E., et al. Vemurafenib combined with cladribine and cytarabine results in durable remission of pediatric *BRAF* V600E-positive LCH. *Blood Adv* 2023; 7 (18): 5246–57. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022009067
- Donadieu J., Piguat C., Bernard F., Barkaoui M., Ouache M., Bertrand Y., et al. A new clinical score for disease activity in Langerhans cell histiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 43 (7): 770–6. DOI: 10.1002/pbc.20160
- Schemper M., Smith T.L. A note on quantifying follow-up in studies of failure time. *Control Clin Trials* 1996; 17 (4): 343–6. DOI: 10.1016/0197-2456(96)00075-x
- Gadner H., Grois N., Pötschger U., Minkov M., Aricò M., Braier J., et al. Improved outcome in multisystem Langerhans cell histiocytosis is associated with therapy intensification. *Blood* 2008; 111 (5): 2556–62. DOI: 10.1182/blood-2007-08-106211
- Rosso D.A., Amaral D., Latella A., Chantada G., Braier J.L. Reduced doses of cladribine and cytarabine regimen was effective and well tolerated in patients with refractory-risk multisystem Langerhans cell histiocytosis. *Br J Haematol* 2016; 172 (2): 287–90. DOI: 10.1111/bjh.13475
- Salek M., Oak N., Hines M.R., Maciaszek J.L., Tatevossian R., Sharma A., et al. Development of *BRAF*V600E-positive acute myeloid leukemia in a patient on long-term dabrafenib for multisystem LCH. *Blood Adv* 2022; 6 (8): 2681–4. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021006229
- Milne P., Bomken S., Nicholson J., et al. Lineage-Switch of Cells Harboring *BRAF*V600E Alleles in Patients with high risk Lch Treated with Inhibitors. *Pediatr Blood Cancer* 2022; 69 (S1): 516.
- Ottaviano M., Giunta E.F., Tortora M., Curvietto M., Attademo L., Bosso D., et al. *BRAF* Gene and Melanoma: Back to the Future. *Int J Mol Sci* 2021;22 (7): 3474. DOI: 10.3390/ijms22073474
- Eder S.K., Schwentner R., Soussia P.B., Abagnale G., Attarbaschi A., Minkov M., et al. Vemurafenib acts as a molecular on-off switch governing systemic inflammation in Langerhans cell histiocytosis. *Blood Adv* 2022; 6 (3): 970–5. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021005442
- Donadieu J., Larabi I.A., Tardieu M., Visser J., Hutter C., Sieni E., et al. Vemurafenib for refractory multisystem Langerhans cell histiocytosis in children: An international observational study. *J Clin Oncol* 2019; 37 (31): 2857–65. DOI: 10.1200/JCO.19.00456
- Veys P.A., Nanduri V., Baker K.S., He W., Bandini G., Biondi A., et al. Haematopoietic stem cell transplantation for refractory Langerhans cell histiocytosis: Outcome by intensity of conditioning. *Br J Haematol* 2015; 169 (5): 711–8. DOI: 10.1111/bjh.13347

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-45-55

Визуальная и количественная оценка промежуточной позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой у детей с лимфомой Ходжкина

М.М. Дунайкин¹, Г.И. Шестопалов^{1, 2}, М.Я. Ядгаров¹, Ч. Кайлаш¹, Е.Д. Киреева¹, Н.В. Мякова¹, Ю.Н. Ликарь¹

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

²Российская детская клиническая больница – филиал ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Использование риск-адаптивной терапии у пациентов с лимфомой Ходжкина (ЛХ) позволяет выполнить деэскалацию протокола лечения и тем самым снизить частоту отдаленных побочных эффектов. Наличие метаболической ремиссии по результатам промежуточной (после 2 блоков химиотерапии) позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), является прогностическим фактором, влияющим на дальнейшую тактику лечения. Общепринятая визуальная оценка по 5-балльной шкале (Deauville score, DS) промежуточной ПЭТ/КТ может быть подвержена неточностям. Одним из предложенных способов решения этой проблемы может быть использование количественного метода оценки (qPET). Целью нашего исследования стало сравнение частоты несоответствия значений DS при использовании визуальной (vDS) и количественной (qDS) оценки выявленных очагов на изображениях промежуточной ПЭТ/КТ у детей с ЛХ. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Ретроспективно с использованием qPET были проанализированы результаты промежуточных ПЭТ/КТ у 115 пациентов с ЛХ (медиана возраста – 14 лет) и определена qDS. У всех пациентов были доступны инициальная ПЭТ/КТ для сравнения и данные истории болезни. Все исследования были выполнены в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в период с июня 2016 г. по март 2023 г. Результаты нашей работы показали, что при вышеуказанном подходе (наличие инициальной ПЭТ/КТ и доступа к истории болезни) расхождение в баллах между vDS и qDS составляло около 30%. Отсутствие различий было отмечено только при установлении DS4 и DS5. В других случаях использование vDS привело к изменению балла у 31 (27,0%) пациента (в 25 случаях было выставлено 2 балла по qDS против 3 баллов по vDS; в 6 – 3 балла по qDS против 4 баллов по vDS). Факторами, независимо связанными с бессобытийной выживаемостью, являлись значение vDS (отношение рисков 2,49 (1,26–4,93); $p = 0,009$), а также наличие объемной опухолевой массы (отношение рисков 3,12 (1,10–9,64); $p = 0,048$). Проведенный нами сравнительный анализ выявил различия в результатах, полученных при использовании vDS и qDS, но ни в одном случае при таком подходе не было отмечено занижения балла при оценке по vDS и, как следствие, не было деэскалации терапии. При хорошем сокращении объема опухоли по данным КТ, но сомнительных результатах оценки промежуточной ПЭТ/КТ по vDS (особенно при DS4 или DS3) следует использовать программное обеспечение для оценки по qDS.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией, Deauville score, выживаемость, химиотерапия

Дунайкин М.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 45–55. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-45-55

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 18.10.2023

Принята к печати 16.01.2024



EDN: DRUIVO

Контактная информация:

Ядгаров Михаил Яковлевич, канд. мед. наук, врач-кибернетик отделения позитронно-эмиссионной томографии и радионуклидной диагностики ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: mikhail.yadgarov@mail.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 18.10.2023

Accepted 16.01.2024

Visual and quantitative assessment of interim ^{18}F -fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography in children with Hodgkin lymphoma

M.M. Dunaikin¹, G.I. Shestopalov^{1,2}, M.Ya. Yadgarov¹, Ch. Kailash¹, E.D. Kireeva¹, N.V. Myakova¹, Yu.N. Likar¹¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow²Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow**Correspondence:**

Mikhail Ya. Yadgarov,

MD, Cand. Med. Sci., a cyberneticist at the PET and Radionuclide Diagnosis Department

at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology,

Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Address: 1 Samory Mashela St.,

Moscow 117997, Russia

E-mail: mikhail.yadgarov@mail.ru

The use of risk-adaptive therapy in patients with Hodgkin lymphoma (HL) makes it possible to de-escalate treatment protocols, thereby decreasing the incidence of long-term adverse effects. Metabolic remission as detected by interim positron emission tomography/computed tomography (PET/CT) performed after 2 cycles of chemotherapy is a prognostic factor that could guide further treatment. The generally accepted Deauville 5-point scale (DS) used for the visual assessment of interim PET/CT scans may be prone to inaccuracies. One of the suggested ways to address this problem is to use a quantitative evaluation method (qPET). The aim of our study was to determine the level of discrepancy between DS assigned after visual (vDS) and quantitative (qDS) assessment of detected lesions on interim PET/CT images in children with HL. 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. Interim PET/CT scans of 115 patients with HL (the median age was 14 years) were retrospectively analyzed using the quantitative (qPET) method to determine qDS. Baseline PET/CT scan findings and medical history data were available for all patients. All imaging studies were performed at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology between June 2016 and March 2023. Our results showed that with the above approach (availability of initial PET/CT scans and access to the patient's medical history), discordance between vDS and qDS was about 30%. There was no difference in the patients with a DS of 4 and 5. In other cases, in 31 (27%) patients, vDS and qDS differed by one score: 25 patients with a qDS of 2 had a vDS of 3; 6 patients with a qDS of 3 had a vDS of 4. Factors independently associated with event-free survival were vDS (hazard ratio (HR) 2.49 (1.26–4.93), $p = 0.009$) and the presence of a bulky tumor (HR 3.12 (1.10–9.64), $p = 0.048$). Our comparative analysis revealed a discrepancy between the findings obtained by the visual and quantitative assessment methods. In our study, there were no cases of vDS underestimation and, as a consequence, no patients underwent treatment de-escalation. In HL patients with good tumor volume reduction on CT but ambiguous results of interim PET/CT evaluation performed using the vDS (especially in case of DS4 or DS3), quantification software should be used.

Key words: Hodgkin lymphoma, positron emission tomography with computed tomography, Deauville score, survival, chemotherapy

Dunaikin M.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 45–55.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-45-55

В структуре детских злокачественных заболеваний лимфома Ходжкина (ЛХ) составляет около 5–7% и является одной из самых прогностически благоприятных злокачественных опухолей у детей и подростков с общей 5-летней выживаемостью около 90% [1, 2].

К сожалению, прекрасные результаты лечения пациентов с ЛХ могут быть скомпрометированы поздними побочными эффектами и осложнениями как непосредственно от проводимой химиотерапии, так и от ее комбинации с лучевой терапией (ЛТ). Дети, излечившиеся от ЛХ, попадают в группу риска по развитию вторичных опухолей, патологии щитовидной железы, заболеваний сердечно-сосудистой системы, пневмотоксичности, нарушений фертильности. Все перечисленные факторы влияют как на снижение долгосрочной выживаемости, так и на качество жизни таких пациентов [3–7].

Оптимизация лечения, а именно использование риск-адаптивной терапии, дает возможность выполнить деэскалацию терапии и/или отказаться от проведения ЛТ у определенных групп пациентов с ЛХ. Такой подход позволяет минимизировать отдаленные осложнения при сохранении существующих шансов достижения ремиссии по заболеванию. Однако применение риск-адаптивной терапии возможно только при наличии прогностических факторов, позволяющих максимально точно выполнить селекцию таких пациентов. Одним из этих прогностических факторов является наличие метаболической ремиссии по результатам позитронно-эмиссионной томографии,

совмещенной с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой (^{18}F -ФДГ), выполненной после 2 блоков химиотерапии (промежуточная ПЭТ/КТ) [8–14].

Оценка раннего ответа на лечение у пациентов с ЛХ основана на визуальной интерпретации изображений промежуточной ПЭТ/КТ с использованием 5-балльной шкалы (Deauville score, DS) [8, 15]. К сожалению, при всей своей эффективности и простоте выполнения такая оценка может быть подвержена неточностям, что приводит к завышению или занижению значения. Одна из причин расхождений/неточностей при визуальной оценке по DS (vDS) – наличие феномена оптического обмана, или иллюзия одновременного контраста, что и приводит к ошибочному восприятию интенсивности накопления в опухолевых очагах относительно фоновой интенсивности накопления в прилежащих тканях [16]. Для решения проблем, связанных с феноменом оптического обмана, Hasenclever и соавт. разработали количественный метод оценки промежуточной ПЭТ/КТ (the quantitative method (qPET)) путем введения воспроизводимых полуавтоматических количественных измерений [17]. Метод qPET был разработан на основе измерений, выполненных при оценке промежуточных ПЭТ/КТ-изображений более чем у 800 детей с ЛХ, включенных в исследование EuroNet-PHL-C1, в настоящее время данный метод используется в исследовании EuroNet-PHL-C2 [17, 18]. Значение qPET рассчитывается как отношение SUV_{peak} (это среднее значение SUV_{max} в 4 вокселях,

включая воксель с максимальным значением SUV и 3 соседних вокселя с наибольшим значением SUV) к SUV_{mean} печени, измеренному в объеме 30 мл ее правой доли [19]. Для перевода полученных значений qPET в баллы оценки по DS были выбраны пороговые количественные значения, соответствующие балльным оценкам по vDS. Так, нижние пороговые значения для qPET, соответствующие 3, 4 и 5 баллам по DS, составили 0,95, 1,30 и 2,00 соответственно. Полученные авторами результаты позволяют предположить, что использование пороговых значений qPET может быть полезно в дополнение к визуальной оценке ответа на терапию у пациентов с лимфомой. Важно отметить, что для применения методики qPET необходимо наличие дополнительного программного обеспечения.

Целью нашего исследования стало сравнение частоты несоответствия значений DS при использовании количественной оценки (qDS) и vDS выявленных очагов на изображениях промежуточной ПЭТ/КТ у детей с ЛХ. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено одноцентровое ретроспективное исследование педиатрических пациентов с ЛХ, которым выполнялись инициальное и промежуточное (после 2 блоков полихимиотерапии) ПЭТ/КТ-исследования в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в период с июня 2016 г. по март 2023 г. По критериям международного протокола EuroNet-PHL-C1 адекватный метаболический ответ после 2-го курса химиотерапии является показанием к отмене консолидирующей ЛТ. Протокольная терапия пациентам, включенным в данное исследование, выполнялась как в нашем Центре, так и в различных клиниках Российской Федерации.

Критерии включения:

- пациенты младше 18 лет с впервые диагностированной ЛХ;
- терапия проведена согласно европейским международным протоколам EuroNet-PHL-C1 или DAL/GRON-HD-2002;
- выполнены инициальное и промежуточное ПЭТ/КТ-исследования, находящиеся в системе архивирования и передачи изображений (PACS) Центра им. Дмитрия Рогачева;
- период наблюдения не менее 6 мес после начала терапии.

Критерии исключения:

- отсутствие инициального или промежуточного ПЭТ/КТ-исследования;
- отсутствие данных о проводимой терапии, стадии и исходах заболевания.

Были проанализированы следующие клинические данные пациентов: пол, возраст, гистологический подтип ЛХ, стадия по системе Ann Arbor, наличие В-симптомов и экстранодального поражения, диффузно повышенное накопление в костном мозге, терапевтическая группа, объем опухоли исходно и после терапии, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), протокол терапии и ЛТ, ответ на химиотерапию (в соответствии с протоколом EuroNet-PHL-C1) и процент уменьшения объема опухоли, период наблюдения и исходы заболевания. Стадирование заболевания проводилось с помощью ПЭТ/КТ, традиционных методов визуализации, клинического осмотра и трепанобиопсии, проводившейся при наличии сомнений в поражении костного мозга по данным ПЭТ/КТ, в ряде случаев трепанобиопсия была выполнена до проведения ПЭТ/КТ. Наличие объемной опухолевой массы (bulky disease) определялось как объем опухоли 200 мл и более при инициальном исследовании.

В качестве первичной конечной точки была выбрана бессобытийная выживаемость (БСВ), определяемая от начала терапии до даты рецидива/прогрессии или прекращения ремиссии по любой другой причине.

Позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией

Инициальное ПЭТ/КТ-исследование выполнялось до начала лечения, а промежуточное – после окончания 2 блоков протокольной химиотерапии. Временной интервал для промежуточной ПЭТ/КТ составлял от 10 до 19 дней от момента окончания 2-го блока химиотерапии. Пациенты соблюдали общепринятые правила подготовки к исследованию: голод 6 ч до введения ^{18}F -ФДГ, безуглеводная диета за 24-48 ч, покой, теплая одежда. Все исследования были выполнены на аппарате GE Discovery STE (General Electric Healthcare, США). Исследование выполняли приблизительно через 60 мин после внутривенного введения ^{18}F -ФДГ (через периферический или центральный катетер) с активностью ≈ 5 МБк/кг. Протокол КТ-исследования выбирался в зависимости от веса пациента. Полученные КТ-изображения с толщиной среза 3,75 мм реконструировали с толщиной среза 1,25 мм. Протокол ПЭТ-исследования: зона сканирования – от основания черепа до верхней трети бедер; время сбора данных – 3 мин/кровать. Полученные ПЭТ-изображения были реконструированы с использованием итеративного алгоритма, с коррекцией на аттенюацию по данным КТ.

Анализ изображений, включающий визуальную и количественную оценки

Инициальные и промежуточные ПЭТ/КТ-изображения включенных в исследование пациентов были доступны в системе PACS Центра им. Дмитрия

Рогачева. Анализ изображений выполнялся на программном обеспечении Hybrid viewer (HERMES Medical Solutions, Стокгольм, Швеция).

Визуальная оценка по Deauville score

Пятибалльная оценка по vDS была выполнена опытным врачом-радиологом во время анализа изображений промежуточной ПЭТ/КТ. Для сравнения и оценки ответа на терапию врачу-радиологу были доступны изображения инициального ПЭТ/КТ-исследования. Все исследования были пересмотрены и согласованы с другим врачом-радиологом, работающим в отделении. Согласно рекомендациям, 5-балльная оценка по DS выполнялась для остаточного патологического очага с самой высокой метаболической активностью [19].

Количественная оценка по Deauville score

Ретроспективно все изображения были пересмотрены, а визуально выявленные очаги накопления – оценены по DS с использованием qPET [17]. Для количественной оценки применяли программное обеспечение Hybrid3D viewer (HERMES Medical Solutions, Стокгольм, Швеция). Как и при визуальной оценке, оценка по qPET выполнялась на изображениях промежуточного ПЭТ/КТ-исследования для сохраняющихся очагов патологического накопления с самой высокой метаболической активностью.

Статистический анализ

Для оценки нормальности распределения данных использовался тест Шапиро–Уилка. Непрерывные переменные описывались медианами и интеркварти-

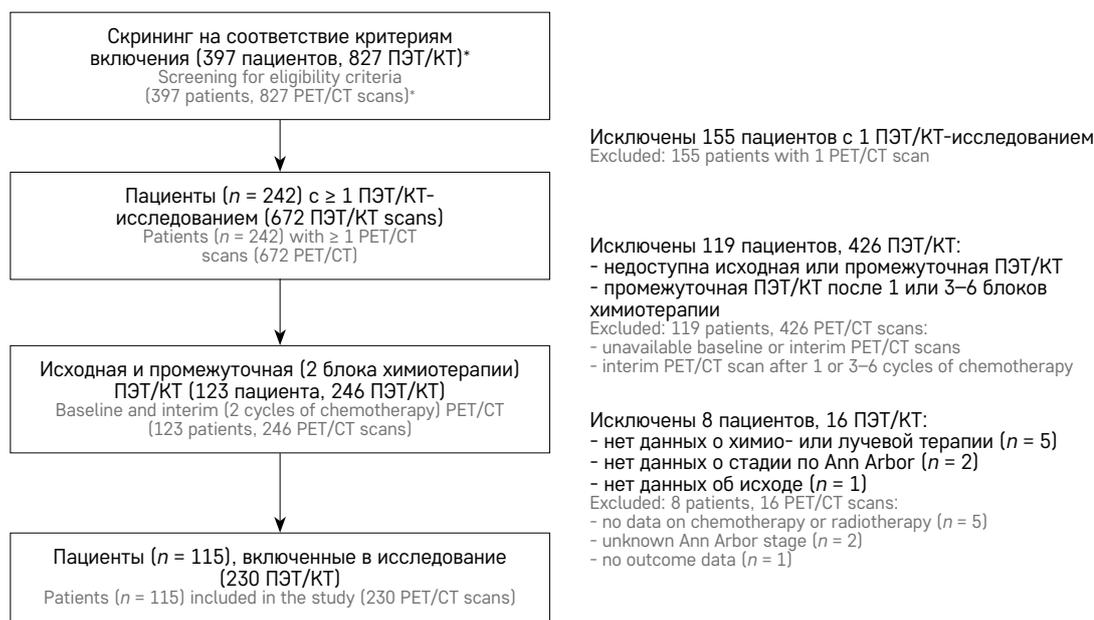
тельными диапазонами (IQR), категориальные переменные – частотами и процентами. Взаимосвязь между непрерывными переменными исследовалась с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (доверительный интервал (ДИ) оценивался по методу Филлера–Хартли–Пирсона). Предикторы неблагоприятного исхода определялись с помощью одномерного регрессионного анализа Кокса с расчетом отношения рисков (OR) и его 95% ДИ. Дополнительно проводился многофакторный регрессионный анализ Кокса для оценки скорректированного OR. Методика включения предикторов в регрессионную модель базировалась на методе прямого пошагового отбора (критерий Вальда). При анализе БСВ использовались кривые Каплана–Майера с оценкой лог-ранк-теста. Согласованность между оценками по vDS и qDS оценивалась через коэффициент согласия Каппа Козна. Для выполнения статистического анализа применялись STATA, версия 17.0 (StataCorp LLC, Техас, США) и IBM SPSS Statistics, версия 27.0 (IBM Corp., Армонк, Нью-Йорк, США). Тепловая карта построена с применением библиотеки Seaborn 0.11.1 для Python 3.7 в среде PyCharm. Статистически значимым считалось значение $p < 0,05$ (двусторонний критерий).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с критериями отбора в исследование были включены 115 пациентов, проходивших терапию с диагнозом ЛХ в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в период с июня 2016 г. по март 2023 г. (рисунки 1).

Рисунок 1
Блок-схема отбора пациентов в исследование

Figure 1
A flowchart of patient selection into the study



* – ПЭТ/КТ-исследования педиатрических пациентов с ЛХ в Центре им. Дмитрия Рогачева (06.2016–03.2023)
* – PET/CT in pediatric patients with Hodgkin's lymphoma (HL) performed at the D. Rogachev NMRCPHOI (06.2016–03.2023)

Медиана возраста составила 14 лет (IQR 11–16 лет), доля мальчиков – 56,5% (таблица 1). Четверть пациентов ($n = 29$) имели IV стадию заболевания, 21 – экстранодальное поражение костного мозга и/или внутренних органов. У 42 (36,5%) пациентов было выявлено объемное образование размером ≥ 200 мл. Терапия по протоколу EuroNet-PHL-C1 проведена 99 (86,1%) пациентам, ЛТ – 46 (40,0%). Полной ремиссии достигли 34 (29,6%) пациента, медианное снижение объема опухоли после 2 блоков химиотерапии составило 83% (IQR 72–93%). Медиана периода наблюдения за пациентами составила 35 мес (IQR 20–49 мес), отмечено 16 (13,9%) случаев рецидивов/прогрессии и 1 (0,9%) летальный исход. В таблице 1 представлены характеристики пациентов, включенных в исследование.

Deauville score

В 2 случаях были отмечены расхождения между исследователями, связанные с интерпретацией выявленных очагов накопления. Так, появившиеся очаги накопления (отсутствовали при инициальной ПЭТ/КТ) после 2 блоков терапии были по-разному интерпретированы по DS (1-й радиолог выставил DS5 и DS5; 2-й радиолог – DS3 и DS3).

Сравнительная оценка vDS и qDS представлена в таблице 2. Использование оценки по vDS приводило к завышению балла у 31 (27,0%) пациента: 25 имели 2 балла по qDS против 3 баллов по vDS и 6 – 3 балла по qDS против 4 баллов vDS (таблица 2). Оценка коэффициента Каппа Коэна показала умеренную согласованность между vDS и qDS: 0,597 (95% ДИ 0,47–0,72). Доля пациентов, получавших ЛТ, при vDS2, 3, 4 и 5 составила 21,2%, 27,3%, 73,9% и 100% соответственно. Из 23 пациентов с 4 баллами по vDS 13 (56,6%) имели объемную опухолевую массу.

Бессобытийная выживаемость

БСВ в общей когорте пациентов с ЛХ через 1, 2, 3 и 5 лет составила $88,4 \pm 3,0\%$, $86,3 \pm 3,3\%$, $86,3 \pm 3,3\%$ и $80,6 \pm 6,4\%$ соответственно. В одномерном анализе увеличение значения vDS по результатам промежуточной ПЭТ/КТ (ОР 2,63; 95% ДИ 1,47–4,71; $p = 0,001$) было связано с БСВ. При многофакторном анализе с корректировкой на стадию, возраст, пол, СОЭ, объемную опухолевую массу, ответ на химиотерапию, ЛТ и протокол терапии оценка по vDS (ОР 2,49; 95% ДИ 1,26–4,93; $p = 0,009$) и наличие bulky disease (ОР 3,12; 95% ДИ 1,01–9,64; $p = 0,048$) были независимыми факторами риска рецидива и прогрессирования при ЛХ (таблица 3).

Как vDS, так и qDS были связаны с БСВ в анализе Каплана–Майера ($p < 0,001$; рисунки 2, 3). Ни одного случая рецидива/прогрессии в группе DS2 отмечено не было, в то время как в группе vDS5

2-летняя БСВ составила $42,9 \pm 18,7\%$ (4 рецидива/прогрессии).

Выявлена статистически значимая положительная корреляционная взаимосвязь между оценкой по vDS и СОЭ ($R = 0,218$; 95% ДИ 0,015–0,403; $p = 0,030$), инициальным ($R = 0,246$; 95% ДИ 0,061–0,416; $p = 0,008$) и посттерапевтическим ($R = 0,289$; 95% ДИ 0,106–0,453; $p = 0,002$) объемом опухоли (рисунок 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Развитие поздних осложнений, вызванных интенсивностью терапии, при современных показателях выживаемости у детей с ЛХ диктует необходимость применения риск-адаптивной терапии. Применение риск-адаптивной терапии возможно только при наличии хорошо проверенных прогностических критериев. Достижение метаболической ремиссии по результатам промежуточной ПЭТ/КТ с ^{18}F -ФДГ является одним из таких прогностических факторов [20–23]. Для определения метаболической ремиссии широко используется визуальная 5-балльная шкала DS при анализе промежуточного ПЭТ/КТ-исследования [15]. К сожалению, при визуальной оценке встречаются расхождения/неточности в оценке метаболической ремиссии, что может привести к принятию неверных клинических решений. С одной стороны, необоснованное снижение интенсивности терапии увеличивает риск рецидива [24]. С другой стороны, повышение интенсивности терапии без наличия показаний неоправданно повышает риск развития поздних побочных эффектов, связанных с терапией [3, 4, 7]. В последнее время в дополнение к визуальной оценке рекомендуют использовать qPET промежуточной ПЭТ/КТ у детей с ЛХ [17, 18].

Результаты нашего исследования показали, что БСВ в общей когорте пациентов с ЛХ превышала 80%. Сравнительная оценка баллов, выставленных при vDS и qDS, продемонстрировала отсутствие различий только при установлении DS5. В других случаях использование vDS привело к завышению балла у 31 (27,0%) пациента. Так, у 25 пациентов было выставлено 2 балла по qDS против 3 баллов по vDS; у 6 – 3 балла по qDS против 4 баллов по vDS. Полученный нами результат умеренной согласованности (оценка коэффициента Каппа Коэна составила около 0,597) между vDS и qDS выше, чем в опубликованных работах [16, 25, 26].

Как известно из ранее опубликованных трудов, основными причинами расхождений/несоответствия оценки по DS могут быть:

1) расхождения, связанные с обнаружением очага, а именно, когда кто-то из исследователей пропускал очаг накопления или считал его незначимым для внесения в заключение. Наше мнение

Таблица 1

Исходные данные и посттерапевтические характеристики пациентов, включенных в исследование ($n = 115$)

Table 1

Baseline and post-treatment characteristics of the patients included in the study ($n = 115$)

Параметр Parameter	Значение Value
Инициальные характеристики Baseline characteristics	
Возраст, медиана (IQR), годы Age, median (IQR), years	14,2 (10,7–16,3), диапазон 0–17,8 14.2 (10.7–16.3), range 0–17.8
Пол, n (%): Sex, n (%):	
женский female	65 (56,5)
мужской male	50 (43,5)
Гистологический подтип, n (%): Histologic subtypes, n (%):	
нодулярный склероз nodular sclerosis HL	89 (77,4)
смешанно-клеточный вариант mixed-cellularity HL	10 (8,7)
лимфоидное преобладание lymphocyte predominant HL	7 (6,1)
NOS	9 (7,8)
Стадия (Ann Arbor), n (%): Stage (Ann Arbor System), n (%):	
I	1 (0,9)
II	51 (44,3)
III	34 (29,6)
IV	29 (25,2)
В-симптомы, n (%) B symptoms, n (%)	59 (51,3)
Экстранодальное поражение, n (%) Extranodal involvement, n (%)	21 (18,3)
Диффузно повышенное накопление в костном мозге (ПЭТ), n (%) Increased diffuse uptake in the bone marrow (PET), n (%)	41 (35,7)
Очаговое поражение костей (ПЭТ), n (%) Focal bone involvement (PET), n (%)	20 (17,4)
Поражение костного мозга (биопсия; $n = 58$), n (%) Bone marrow involvement (biopsy; $n = 58$), n (%)	3 (5,2)
Терапевтическая группа, n (%): Therapeutic group, n (%):	
1	15 (13,0)
2	46 (40,0)
3	54 (47,0)
Объемная опухолевая масса, n (%) Bulky disease, n (%)	42 (36,5)
Исходный (самый большой) объем опухоли, медиана (IQR), мл Initial (the largest) tumor volume, median (IQR), mL	129 (45–282)
СОЭ, медиана (IQR), мм Erythrocyte sedimentation rate, median (IQR), mm	43 (19–64)
Терапия Treatment	
Протокол лечения, n (%): Treatment protocol, n (%):	
EuroNet-PHL-C1	99 (86,1)
DAL/GPON-HD	16 (13,9)
ЛТ radiation therapy	46 (40,0)
Характеристики после лечения Post-treatment characteristics	
Ответ на химиотерапию, n (%): Response to chemotherapy, n (%):	
локальная полная ремиссия local complete remission	34 (29,6)
локальная неподтвержденная полная ремиссия local unconfirmed complete remission	49 (42,6)
локальная частичная ремиссия local partial remission	27 (23,5)
локально без изменений no local changes	5 (4,3)
локальное прогрессирование local progression	0 (0)
Уменьшение объема опухоли после терапии, медиана (IQR), % Post-treatment tumor volume reduction, median (IQR), %	–83 (–72–(–93))
Максимальный объем опухоли после терапии, медиана (IQR), мл Maximum post-treatment tumor volume, median (IQR), mL	15,0 (2,4–60,0)
Период наблюдения, медиана (IQR), мес Duration of follow-up, median (IQR), months	35 (20–49), диапазон 6–75 35 (20–49), range 6–75
Рецидив/прогрессия, n (%) Relapse/progressive disease, n (%)	16 (13,9), из них 9 (56,3) получили ЛТ 16 (13.9), 9 of them (56.3) received radiation therapy
Летальный исход, n (%) Death, n (%)	1 (0,9)

Note. IQR – the interquartile range

Таблица 2
Сравнение vDS и qDS

Table 2
Comparison between vDS and qDS

	qDS1	qDS2	qDS3	qDS4	qDS5	Сумма Sum	ЛТ, n (%) Radiation therapy, n (%)
vDS1	0	0	0	0	0	0	–
vDS2	0	19	0	0	0	19	4 (21,1)
vDS3	0	25	41	0	0	66	18 (27,3)
vDS4	0	0	6	17	0	23	17 (73,9)
vDS5	0	0	0	0	7	7	7 (100)
Сумма Sum	0	44	47	17	7	115	–

Notes. qDS, quantitative Deauville score; vDS, visual Deauville score.

Таблица 3
Одномерный и многофакторный регрессионный анализ Кокса (БСВ)

Table 3
Univariate and multivariate Cox regression analysis (event-free survival, EFS)

Параметр Variable	Одномерный анализ Univariate analysis			Многофакторный анализ Multivariate analysis		
	ОР HR	95% ДИ 95% CI	p-value	Скорректированное ОР Corrected HR	95% ДИ 95% CI	p-value
Возраст Age	1,01	0,99–1,02	0,358			
Пол (референтная категория – мужской) Sex (the reference category is male)	1,12	0,41–3,02	0,826			
Стадия (Ann Arbor) (III–IV против I–II) Stage (Ann Arbor System) (III–IV vs I–II)	1,08	0,40–2,91	0,874			
В-симптомы B symptoms	2,91	0,94–9,02	0,065			
Экстранодальное поражение Extranodal involvement	0,67	0,15–2,94	0,594			
Диффузно повышенное накопление в костном мозге (ПЭТ) Increased diffuse uptake in the bone marrow (PET)	2,01	0,75–5,34	0,165			
Очаговое накопление в костях (ПЭТ) Focal bone involvement (PET)	2,15	0,75–6,21	0,157			
Объемная опухолевая масса Bulky disease	2,44	0,91–6,55	0,077	3,12	1,01–9,64	0,048
Ответ на химиотерапию (референтная категория – локальная полная ремиссия) Response to chemotherapy (the reference category is local complete remission)	1,39	0,45–4,32	0,571			
СОЭ Erythrocyte sedimentation rate	1,01	0,96–1,02	0,228			
ЛТ Radiation therapy	1,90	0,71–5,11	0,202			
Протокол лечения (референтная категория – EuroNet-PHL-C1) Treatment protocol (the reference treatment is EuroNet-PHL-C1)	2,13	0,69–6,63	0,191			
vDS	2,63	1,47–4,71	0,001	2,49	1,26–4,93	0,009

Notes. HR – hazard ratio; CI – confidence interval.

Рисунок 2
БСВ пациентов с ЛХ в зависимости от vDS (кривые Каплана–Майера)

Figure 2
Kaplan–Meier curves for EFS in the patients with HL based on vDS

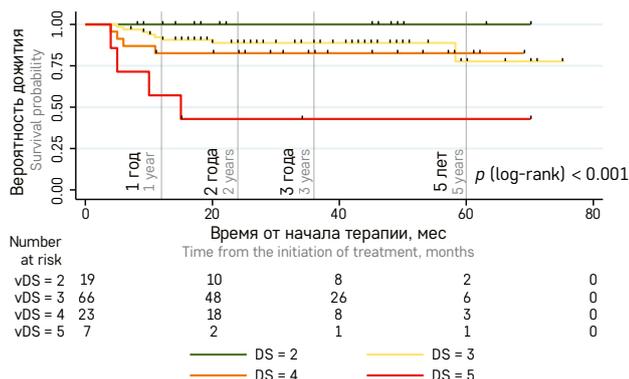
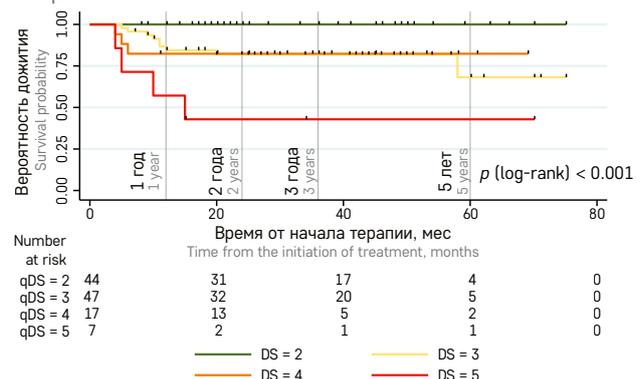


Рисунок 3
БСВ пациентов с ЛХ в зависимости от qDS (кривые Каплана–Майера)

Figure 3
Kaplan–Meier curves for EFS in the patients with HL based on qDS



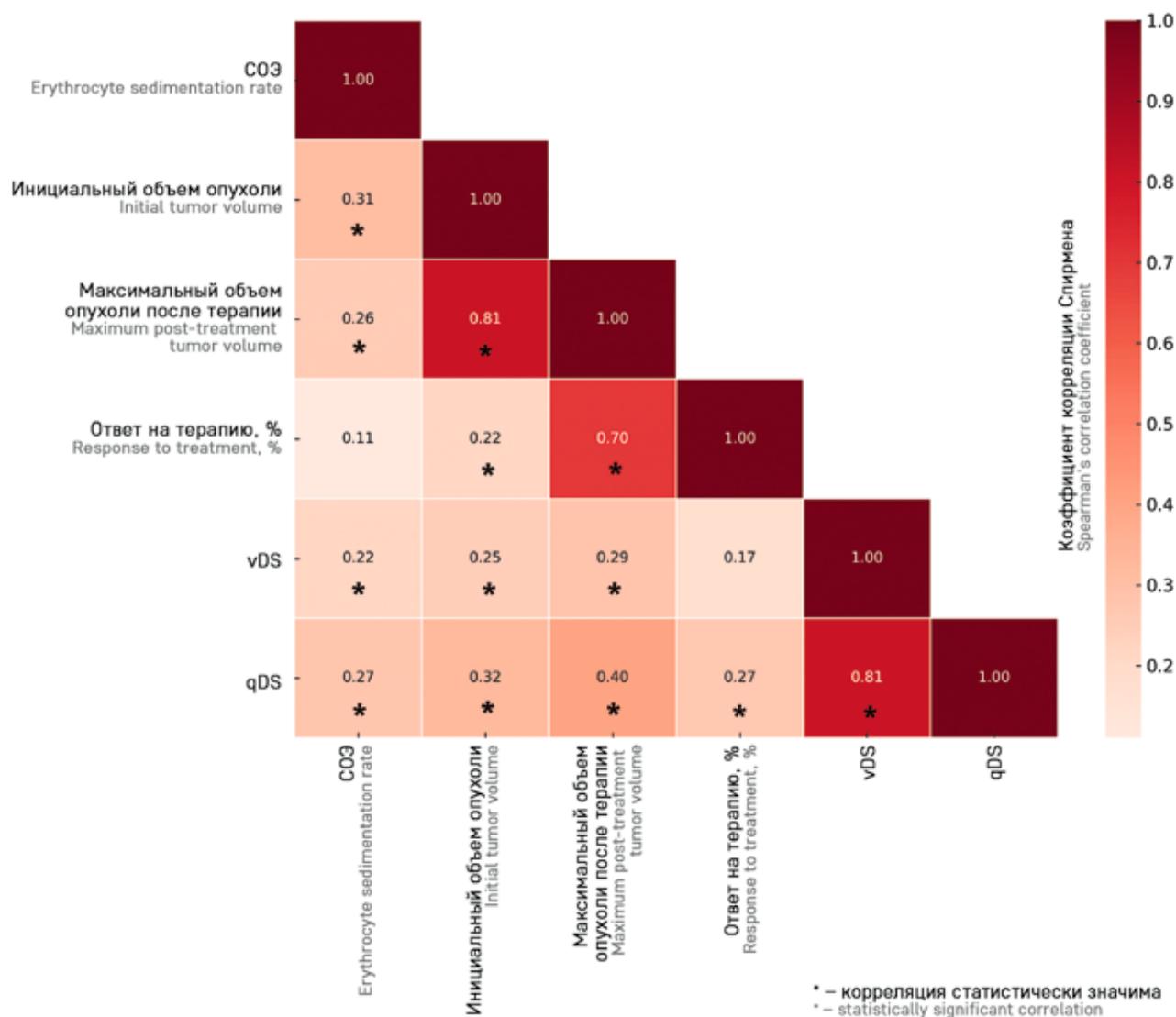
полностью совпадает с опубликованным ранее мнением коллег, что количество случаев, когда опытный врач-радиолог пропускает очаг накопления, ничтожно мало, и чаще всего он видит его, но подсознательно интерпретирует как незлокачественный и не указывает в заключении. Вторая причина, приводящая к тому, что очаг накопления (особенно низкой интенсивности) может быть пропущен – выраженное накопление ^{18}F -ФДГ в буром жире. В таком случае необходимо повторить исследование с проведением специальной подготовки перед ним. Безусловно, правильная подготовка пациента, наличие инициальных изображений ПЭТ/КТ для сравнения, дополнительное использование алгоритмов автоматической сегментации [27], подготовка и опыт врача-радиолога в оценке исследований у пациентов с ЛХ позволяют свести к нулю расхождения такого типа. В нашей работе мы не оценивали такие расхождения, так как изначально все

ПЭТ/КТ-исследования просматривались и обсуждались 2 врачами-радиологами;

2) расхождения, связанные с интерпретацией выявленных очагов накопления, возникают в случае, когда оба исследователя видят один и тот же очаг, но при этом не соглашаются с этиологией/причиной повышенного накопления. Такие расхождения встречаются чаще [26]. В нашей работе расхождения, связанные с интерпретацией очага накопления, были отмечены у 2 пациентов. Так, один из врачей-радиологов при интерпретации изображений промежуточной ПЭТ/КТ отметил появление новых очагов с метаболической активностью и выставил DS5. Однако после пересмотра в сравнении с инициальной ПЭТ/КТ и коллегиального обсуждения данные очаги были расценены как очаги воспалительного/реактивного характера. По появившимся новым очагам выставлен DSX, а по накоплению в остаточном очаге – DS3. Такое низкое несоответствие в интерпретации выяв-

Рисунок 4
Тепловая карта корреляционной матрицы

Figure 4
Heat map of the correlation matrix



ленных очагов в нашей работе, возможно, объясняется тем, что врачи прошли единое обучение в отделении, имели доступ к истории болезни пациента и, что очень важно, имели возможность сравнивать изображения промежуточного и инициального ПЭТ/КТ-исследований;

3) расхождения, связанные с оценкой интенсивности накопления выявленного очага, что чаще всего происходит из-за разницы в визуальном восприятии интенсивности накопления (рисунки 5А). В нашей работе мы оценили именно этот вариант расхождений, используя программное обеспечение Hybrid3D viewer (HERMES Medical Solutions, Стокгольм, Швеция) в дополнение к визуальной оценке (рисунки 5Б). Следует отметить, что при сравнении vDS и qDS расхождения составили 27% (таблица 2), что отличается от ранее опубликованных данных [16, 26]. Достаточно высокое сходство можно объяснить наличием у врача-радиолога доступа к истории болезни пациента, к изображениям инициальной ПЭТ/КТ и другим методам исследования и возможностью коллегиального обсуждения.

В нашем исследовании при многофакторном анализе оценка по DS и наличие объемной опухолевой массы были независимо связаны с риском рецидива и прогрессирования у детей с ЛХ. Ни одного случая рецидива/прогрессии в группе DS2 отмечено не было, в то же время в группе DS5 были отмечены 4 события, а 2-летняя БСВ составила всего $42,9 \pm 18,7\%$. При этом как vDS, так и qDS были связаны с БСВ в анализе Каплана–Майера. Оценка по vDS в 73% случаев совпадала с оценкой по qDS. Следует отметить, что имеющиеся расхождения между баллами, выставленными при оценке по vDS и qDS, в нашем исследовании не привели к деэскалации терапии и/или отмене ЛТ, так как ни в одном случае врач-радиолог при vDS не занижал баллы. Так, ретроспективно при использовании qDS было отмечено только снижение балла с 4 при оценке по vDS до 3 по qDS у 6 пациентов и с 3 по vDS до 2 по qDS в 25 случаях. Однако завышение балла по vDS, а именно различия в оценке 3 и 4 баллов принципиально важны, так как по протоколу в случае DS3 на промежуточной ПЭТ/КТ дети не получают в последующем ЛТ.

Рисунок 5

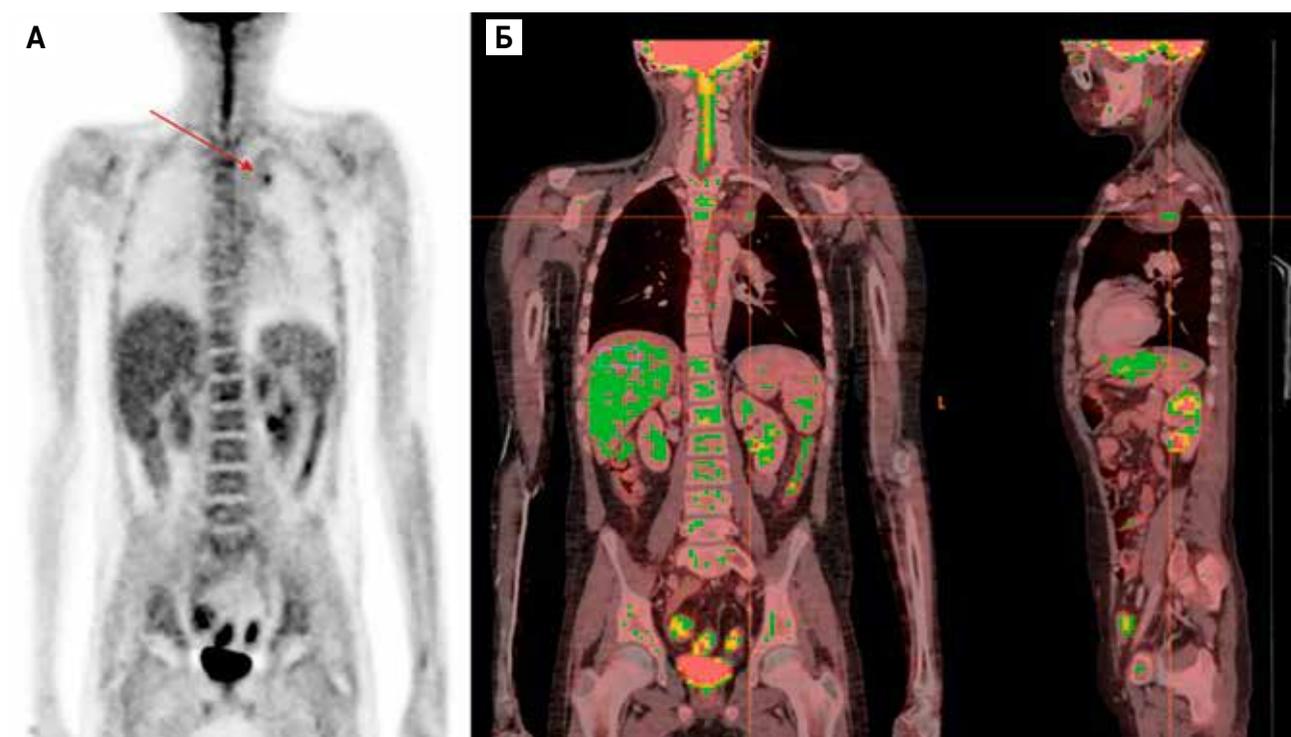
Пример оценки по vDS и qDS накопления ^{18}F -ФДГ в остаточном конгломерате паравазальных/паратрахеальных лимфоузлов слева на изображениях промежуточной ПЭТ/КТ

А – на проекции максимальной интенсивности (чаще всего выполняется оценка по vDS) определяется очаговое накопление в конгломерате лимфоузлов (красная стрелка), которое несколько превышает накопление в печени, заключение радиолога – DS4; Б – фронтальные и сагиттальные ПЭТ/КТ-изображения с дополнительным использованием программного продукта (qPET) показывают, что очаговое накопление в конгломерате лимфоузлов окрасилось в зеленый цвет, как и накопление в печени. Значит, интенсивность накопления данного очага не превышает интенсивность накопления в печени и, соответственно, при количественной оценке – DS3

Figure 5

An example of vDS and qDS assessment of ^{18}F -FDG uptake in a residual conglomerate of pre-vascular/paratracheal nodes on the left on interim PET/CT

A – a maximum intensity projection image (MIP images are most commonly used for the assessment using the vDS) showing a focal uptake in a lymph node conglomerate (red arrow), which is slightly more intense than in the liver (DS4 assigned by a radiologist); B – frontal and sagittal PET/CT images processed using qPET software showing the focal uptake in the lymph node conglomerate colored green, the same as in the liver. This means that this focal uptake does not exceed that of the liver and is assessed quantitatively as DS3



Отдельно хотелось бы обратить внимание на очень интересное наблюдение в нашем исследовании: из 66 пациентов с vDS3 у 24 (36,4%) при инициальном обследовании выявлена bulky disease. В дальнейшем у 5 (20,8%) из них было отмечено событие: рецидив/прогрессия, в то время как у 39 (92,8%) из 42 пациентов с vDS3 без наличия большой массы опухоли при инициальном исследовании каких-либо событий в дальнейшем выявлено не было.

К особенностям нашего исследования следует отнести несколько факторов, которые можно расценить и как положительные, и как отрицательные:

1) оба врача-радиолога были из одного отделения ядерной медицины с одинаковым обучением (принятым в отделении) по интерпретации результатов промежуточной ПЭТ/КТ у детей с ЛХ;

2) при наличии сомнений при оценке по vDS врач-радиолог мог обратиться за помощью к коллегам;

3) у врачей-радиологов был доступ к истории болезни и к изображениям инициального ПЭТ/КТ-исследования;

4) в нашем исследовании мы оценили только расхождения, связанные с оценкой интенсивности накопления выявленного очага (сравнили расхождения между vDS и qDS).

Безусловно, при пересмотре изображений промежуточной ПЭТ/КТ пациентов, включенных в наше исследование, врачом-радиологом из другого медицинского центра, без доступа к истории болезни и результатам инициальной ПЭТ/КТ, процент расхождения будет выше, что продемонстрировано в ряде публикаций [16, 26]. Однако при возможности обсуждения, наличия доступа к истории болезни и результатам инициальной ПЭТ/КТ, процент расхождений будет сопоставим с полученным в нашем исследовании.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам нашей работы одним из важных выводов является необходимость наличия иници-

альной ПЭТ/КТ для сравнения с промежуточным исследованием, доступа к важной информации из истории болезни пациента и обучение врача-радиолога оценке промежуточной ПЭТ/КТ у детей с ЛХ для уменьшения количества ошибочных интерпретаций. Результаты нашей работы показали, что при вышеуказанном подходе расхождение в баллах между vDS и qDS составляет менее 30%. К сожалению, такой результат далек от идеального и требует дальнейшего совершенствования метода, но, что очень важно, ни в одном случае при таком подходе не было отмечено занижения балла при vDS и, как следствие, не было деэскалации терапии. При хорошем сокращении объема опухоли по данным КТ, но сомнительных результатах оценки по vDS промежуточной ПЭТ/КТ (особенно при DS4 или DS3) следует использовать программное обеспечение для оценки по qDS.

Результаты нашего исследования подтвердили ранее опубликованные данные, что оценка DS2 не вызывает сомнений в наличии метаболической ремиссии и хорошо подходит как прогностический фактор для проведения риск-адаптивной терапии. Однако у пациентов с DS3 и наличием bulky disease при инициальном исследовании констатация метаболической ремиссии, как и дальнейшая тактика ведения, требует обсуждения, необходимо проведение дальнейшего исследования для определения рисков такой взаимосвязи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Dunaykin M.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9830-5686>

Yadgarov M.Ya. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3792-1682>

Kailash Ch. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7427-4560>

Kireeva E.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3990-8879>

Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Likar Yu.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6158-2222>

Литература

- Friedman D.L., Chen L., Wolden S., Buxton A., McCarten K., FitzGerald T.J., et al. Dose-intensive response-based chemotherapy and radiation therapy for children and adolescents with newly diagnosed intermediate-risk hodgkin lymphoma: a report from the Children's Oncology Group Study AHOD0031. *J Clin Oncol* 2014; 32 (32): 3651–8. DOI: 10.1200/JCO.2013.52.5410
- Mauz-Körholz C., Metzger M.L., Kelly K.M., Schwartz C.L., Castellanos M.E., Dieckmann K., et al. Pediatric Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol* 2015; 33 (27): 2975–85. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.4853
- Castellino S.M., Geiger A.M., Mertens A.C., Leisenring W.M., Tooze J.A., Goodman P., et al. Morbidity and mortality in long-term survivors of Hodgkin lymphoma: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood* 2011; 117 (6): 1806–16. DOI: 10.1182/blood-2010-04-278796

4. Bhakta N., Liu Q., Yeo F., Baassiri M., Ehrhardt M.J., Srivastava D.K., et al. Cumulative burden of cardiovascular morbidity in paediatric, adolescent, and young adult survivors of Hodgkin's lymphoma: an analysis from the St Jude Lifetime Cohort Study. *Lancet Oncol* 2016; 17 (9): 1325–34. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30215-7
5. Metzger M.L., Weinstein H.J., Hudson M.M., Billett A.L., Larsen E.C., Friedmann A., et al. Association between radiotherapy vs no radiotherapy based on early response to VAMP chemotherapy and survival among children with favorable-risk Hodgkin lymphoma. *JAMA* 2012; 307 (24): 2609–16. DOI: 10.1001/jama.2012.5847
6. Morton L.M., Onel K., Curtis R.E., Hungate E.A., Armstrong G.T. The Rising Incidence of Second Cancers: Patterns of Occurrence and Identification of Risk Factors for Children and Adults. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2014: e57–67. DOI: 10.14694/EdBook_AM.2014.34.e57
7. Schaapveld M., Aleman B.M.P., van Eggermond A.M., Janus C.P.M., Krol A.D.G., van der Maazen R.W.M., et al. Second Cancer Risk Up to 40 Years after Treatment for Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 373 (26): 2499–511. DOI: 10.1056/NEJMoa1505949
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): 3059–67. DOI: 10.1200/JCO.2013.54.8800
9. Kostakoglu L., Cheson B.D. Current role of FDG PET/CT in lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41 (5): 1004–27. DOI: 10.1007/s00259-013-2686-2
10. Radford J., Illidge T., Counsell N., Hancock B., Pettengell R., Johnson P., et al. Results of a trial of PET-directed therapy for early-stage Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372 (17): 1598–607. DOI: 10.1056/NEJMoa1408648
11. Coyle M., Kostakoglu L., Evens A.M. The evolving role of response-adapted PET imaging in Hodgkin lymphoma. *Ther Adv Hematol* 2016; 7 (2): 108–25. DOI: 10.1177/2040620715625615
12. Bakhshi S., Bhethanabhotla S., Kumar R., Agarwal K., Sharma P., Thulkar S., et al. Posttreatment PET/CT Rather Than Interim PET/CT Using Deauville Criteria Predicts Outcome in Pediatric Hodgkin Lymphoma: A Prospective Study Comparing PET/CT with Conventional Imaging. *J Nucl Med* 2017; 58 (4): 577–83. DOI: 10.2967/jnumed.116.176511
13. Kelly K.M. Hodgkin lymphoma in children and adolescents: improving the therapeutic index. *Blood* 2015; 126 (22): 2452–8. DOI: 10.1182/blood-2015-07-641035
14. Kelly K.M., Cole P.D., Pei Q., Bush R., Roberts K.B., Hodgson D.C., et al. Response-adapted therapy for the treatment of children with newly diagnosed high risk Hodgkin lymphoma (AHOD0831): a report from the Children's Oncology Group. *Br J Haematol* 2019; 187 (1): 39–48. DOI: 10.1111/bjh.16014
15. Meignan M., Gallamini A., Haioun C. Report on the First International Workshop on Interim-PET-Scan in Lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2009; 50 (8): 1257–60. DOI: 10.1080/10428190903040048
16. Kluge R., Chavdarova L., Hoffmann M., Kobe C., Malkowski B., Montravers F., et al. Inter-Reader Reliability of Early FDG-PET/CT Response Assessment Using the Deauville Scale after 2 Cycles of Intensive Chemotherapy (OEPA) in Hodgkin's Lymphoma. *PLoS One* 2016; 11 (3): e0149072. DOI: 10.1371/journal.pone.0149072
17. Hasenclever D., Kurch L., Mauz-Körholz C., Elsner A., Georgi T., Wallace H., et al. qPET – a quantitative extension of the Deauville scale to assess response in interim FDG-PET scans in lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41 (7): 1301–8. DOI: 10.1007/s00259-014-2715-9
18. Mauz-Körholz C., Landman-Parker J., Balwierz W., Ammann R.A., Anderson R.A., Attarbaschi A., et al. Response-adapted omission of radiotherapy and comparison of consolidation chemotherapy in children and adolescents with intermediate-stage and advanced-stage classical Hodgkin lymphoma (EuroNet-PHL-C1): a titration study with an open-label, embedded, mult. *Lancet Oncol* 2022; 23 (1): 125–37. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00470-8
19. Barrington S.F., Mikhaeel N.G., Kostakoglu 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. DOI: 10.1200/JCO.2013.53.5229
20. Engert A., Haverkamp H., Kobe C., Markova J., Renner C., Ho A., et al. Reduced-intensity chemotherapy and PET-guided radiotherapy in patients with advanced stage Hodgkin's lymphoma (HD15 trial): a randomised, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2012; 379 (9828): 1791–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61940-5
21. Gallamini A., Patti C., Viviani S., Rossi A., Fiore F., Di Raimondo F., et al. Early chemotherapy intensification with BEACOPP in advanced-stage Hodgkin lymphoma patients with a interim-PET positive after two ABVD courses. *Br J Haematol* 2011; 152 (5): 551–60. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08485.x
22. Cheson B.D., Kostakoglu L. FDG-PET for Early Response Assessment in Lymphomas: Part 1-Hodgkin Lymphoma. *Oncology (Williston Park)* 2017; 31 (1): 45–9.
23. Koga Y., Baba S., Fukano R., Nakamura K., Soejima T., Maeda N., et al. The Effect of Interim FDG-PET-guided Response-Adapted Therapy in Pediatric Patients with Hodgkin's Lymphoma (HL-14): Protocol for a Phase II Study. *Acta Med Okayama* 2018; 72 (4): 437–40. DOI: 10.18926/AMO/56185
24. Ansell S.M. Hodgkin lymphoma: A 2020 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2020; 95 (8): 978–89. DOI: 10.1002/ajh.25856
25. Han E.J., O J.H., Yoon H., Jung S.E., Park G., Choi B.O., et al. FDG PET/CT response in diffuse large B-cell lymphoma: Reader variability and association with clinical outcome. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95 (39): e4983. DOI: 10.1097/MD.0000000000004983
26. Georgi T.W., Kurch L., Hasenclever D., Warbey V.S., Pike L., Radford J., et al. Interobserver variability in interim PET assessment in Hodgkin lymphoma—reasons and solutions. *PLoS One* 2023; 18 (3): e0283694. DOI: 10.1371/journal.pone.0283694
27. Georgi T.W., Zieschank A., Kornrumpf K., Kurch L., Sabri O., Korholz D., et al. Automatic classification of lymphoma lesions in FDG-PET-Differentiation between tumor and non-tumor uptake. *PLoS One* 2022; 17 (4): e0267275. DOI: 10.1371/journal.pone.0267275

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 09.11.2023
Принята к печати 16.01.2024



EDN: EUBQJS

Контактная информация:

Волчков Егор Васильевич,
врач-гематолог отдела исследования
лимфом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: volchcov.egor@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-56-62

Прогностическое значение статуса гена *TP53* у детей с лимфомой Беркитта на протоколе В-НХЛ-2010М

Е.В. Волчков^{1,2}, Ю.Г. Абугова¹, К.Р. Бреннинг¹, Д.С. Абрамов¹, В.В. Фоминых¹, М.А. Сенченко¹, Л.Х. Чугаева¹, Ю.В. Ольшанская¹, Г.А. Новичкова¹, Н.В. Мякова¹

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

²Научно-исследовательский институт молекулярной и клеточной медицины ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Лимфома Беркитта (ЛБ) – один из наиболее частых типов неходжкинских лимфом детского возраста. При применении современных риск-адаптированных протоколов удается добиться показателей выживаемости 85–90%, однако в случае рефрактерного течения заболевания или рецидива прогноз остается неблагоприятным. До настоящего времени в стандартных протоколах система стратификации пациентов на группы риска основывалась в основном на стадии заболевания, распространенности опухолевого процесса и уровне лактатдегидрогеназы. Мутации в гене *TP53* ассоциированы с неблагоприятным прогнозом при многих новообразованиях, а в последнее время появились сообщения, что статус *TP53* может иметь прогностическое значение при ЛБ у детей. Мы проанализировали результаты лечения пациентов, получивших терапию по протоколу В-НХЛ-2010М, в зависимости от статуса гена *TP53*. Анализ показал, что показатели 5-летней бессобытийной и общей выживаемости пациентов с мутацией в гене *TP53* составили 45,3% и 47,1% соответственно, а в группе без мутаций – 97,9% и 97,9% соответственно ($p < 0,001$). Таким образом, статус гена *TP53* является важным прогностическим маркером у педиатрических пациентов с ЛБ и должен учитываться в будущих протоколах. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, лимфома Беркитта, дети, *TP53*, В-НХЛ-2010М

Волчков Е.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2024; 23 (1): 56–62.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-56-62

The prognostic value of *TP53* mutational status in children with Burkitt lymphoma treated according to the B-NHL-2010M protocol

E.V. Volchkov^{1,2}, Yu.G. Abugova¹, K.R. Brenning¹, D.S. Abramov¹, V.V. Fominykh¹, M.A. Senchenko¹, L.Kh. Chugaeva¹, Yu.V. Olshanskaya¹, G.A. Novichkova¹, N.V. Myakova¹

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

²Research Institute of Molecular and Cellular Medicine of the Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

Burkitt lymphoma (BL) is one of the most common types of non-Hodgkin lymphoma in children. The application of modern risk-adapted treatment regimens has resulted in 85–90% survival rates in affected patients; however, prognosis still remains poor in case of relapsed/refractory disease. In standard protocols, patients were stratified into risk groups based primarily on disease stage and extent and lactate dehydrogenase levels. Mutations in the *TP53* gene are associated with a poor prognosis in many tumors, and lately there have been reports that *TP53* status may have prognostic value in pediatric BL. We analyzed therapy outcomes in patients treated in accordance with the B-NHL-2010M protocol according to their *TP53* mutational status. We discovered that the 5-year event-free and overall survival rates in the patients with *TP53* mutations were 45.3% and 47.1% respectively, versus 97.9% and 97.9% in those without *TP53* mutations ($p < 0.001$). Hence, *TP53* mutational status is an important prognostic marker in pediatric patients with BL and should be utilized in future protocols. 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.

Key words: non-Hodgkin lymphomas, Burkitt lymphoma, children, *TP53*, B-NHL-2010M

Volchkov E.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2024; 23 (1): 56–62.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-56-62

Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения от 2022 г., лимфому Беркитта (ЛБ) определяют как агрессивную зрелоклеточную В-клеточную опухоль, состоящую из клеток среднего размера с герминальным В-клеточным фенотипом и реаранжировкой *IG::MYC* [1]. Данная опухоль является наиболее частой из В-клеточных неходжкинских лимфом (В-НХЛ) у детей [2] и высокочувствительной к химиотерапии. Так, в развитых странах показатели выживаемости у

пациентов с продвинутыми стадиями при проведении коротких интенсивных курсов терапии достигают 85% [3, 4], однако рецидивы и рефрактерное течение заболевания плохо поддаются лечению [4, 5]. В настоящее время уже оправдана необходимость в снижении интенсивности лечения для предотвращения токсических осложнений у детей с хорошим прогнозом, в то же время важно оптимально адаптировать терапию у пациентов с высоким риском рецидива. Учитывая высокую экспрессию молекулы CD20

на опухолевых клетках, в современных протоколах к блокам химиотерапии стали добавлять моноклональное антитело к CD20 (ритуксимаб), что позволило существенно улучшить результаты лечения. Данный препарат впервые был использован у детей с ЛБ в России в протоколе В-НХЛ-2004М, по результатам которого более чем у 90% пациентов удалось добиться полной ремиссии на терапии сниженной интенсивности [6]. А по данным рандомизированного исследования Inter-B-NHLritux 2010 3-летняя общая выживаемость (ОВ) в группе с ритуксимабом составила 93,9% [7]. В протоколе В-НХЛ-2010М ритуксимаб был включен в терапию для всех групп риска в целях деэскалации интенсивности химиотерапии. По нашим данным, показатели ОВ у пациентов 3-й и 4-й групп риска на данном протоколе составили 90,7% и 82,6% соответственно [8].

Как известно, основным драйверным событием для ЛБ является перестройка гена *c-MYC*. Однако при проведении полноэкзомного секвенирования у пациентов с ЛБ удалось выявить дополнительные мутации в целом ряде генов, наиболее частыми из которых были *ID3*, *GNA13*, *TP53*, *SMARCA4* и др. [9]. Что касается *TP53*, то это один из наиболее частых мутирующих генов при онкологических заболеваниях [10]. Имеются сведения о том, что данный ген также имеет важное значение в развитии лимфом [11, 12], в том числе и ЛБ [13]. Имеются многочисленные исследования, показывающие негативное прогностическое влияние мутаций гена *TP53* у взрослых пациентов с В-НХЛ [14–16]. В детской популяции прогностическое значение данных мутаций изучено недостаточно. Результаты ретроспективного анализа, проведенного в Англии, где исследовались образцы от пациентов с ЛБ, получавших лечение в период 1993–2014 гг. по протоколам 89FAB/LMB96, продемонстрировали, что у больных с мутациями в гене *TP53* были достоверно хуже показатели бессобытийной выживаемости (БСВ) – 66,7% против 100% у пациентов без мутации ($p < 0,001$) и ОВ – 75,6% против 100% ($p < 0,001$) соответственно [17]. Показатели выживаемости при этом достоверно не отличались в зависимости от характера мутации (биаллельная и моноаллельная). Важной особенностью изучаемой когорты пациентов являлось отсутствие ритуксимаба в схемах терапии, в связи с чем авторы также провели анализ прогностического влияния статуса *TP53* на когорте больных, получавших лечение по протоколу Inter-B-NHLritux 2010. В группе высокого риска (распространенная стадия заболевания, высокий уровень лактатдегидрогеназы) прогностическое значение статуса гена *TP53* было также подтверждено. БСВ у пациентов с мутацией *TP53* и без нее составила 55,6% и 100% соответственно ($p = 0,005$), а ОВ – 66,7% и 100% соответственно ($p = 0,019$). Таким образом, было

показано, что статус гена *TP53* является важным прогностическим маркером и может быть использован в стратификации пациентов детского возраста с ЛБ. В настоящей работе мы провели ретроспективный анализ исходов терапии пациентов на протоколе В-НХЛ-2010М в зависимости от статуса гена *TP53*. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты

В исследование были включены пациенты детского возраста с верифицированным диагнозом ЛБ, получавшие терапию по протоколу В-НХЛ-2010М с 2013 по 2020 г. Биопсийный материал в виде парафинизированных блоков (FFPE) был предоставлен из архива патологоанатомического отделения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Для определения распространенности опухолевого процесса использовалось стадирование по St. Jude. Стратификация на группы риска осуществлялась согласно критериям протокола. Все пациенты и/или их законные представители подписывали информированное добровольное согласие на участие в исследовании, а также на исследование биологического материала. Все генетические исследования и анализ медицинской информации выполнялись согласно внутренним правилам организации, разработанным и одобренным независимым этическим комитетом НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Выделение нуклеиновых кислот

В качестве опухолевого материала для выделения нуклеиновых кислот (НК) использовались биоптаты опухоли, фиксированные с помощью формалина (FFPE-блоки), или образцы костного мозга в случае лейкемизации лимфомы. Для выделения НК применялся набор GeneRead DNA FFPE Kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции производителя. Для образцов костного мозга и плевральной жидкости использовался набор QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия). Контроль качества и концентрации проводился с помощью спектрофотометра NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, США) и интеркалирующего красителя и измерения флуоресценции флуориметром Qubit (Thermo Fisher Scientific, США).

Секвенирование по методу Сэнгера

Анализ мутаций гена *TP53* выполнялся по протоколам Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC). На первом этапе проводилась полимеразная цепная

реакция (ПЦР) со специфическими праймерами к экзонам 5–8 гена *TP53*. Информация о праймерах представлена в *таблице 1*.

Реакция секвенирования и очистка продуктов проводились с применением набора реагентов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fischer Scientific, США) и BigDye X Terminator (Thermo Fischer Scientific, США) согласно инструкции производителя. Анализ нуклеотидной последовательности выполнялся методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI 3500 (Thermo Fischer Scientific, США) согласно инструкции производителя.

Функциональный анализ и интерпретация выявленных вариантов проводились с помощью баз данных открытого доступа COSMIC, ENSEMBL, IARC TP53, ClinVAR, gnomAD и платформы VarSome.

Статистический анализ

Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel. Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программы XLSTAT последней версии (Microsoft). Анализ ОВ и БСВ проводился с использованием метода Каплана–Майера с применением лог-рангового теста для оценки достоверности различий. В качестве точки отсчета для вычисления БСВ и ОВ выбирали дату постановки диагноза. В качестве события для БСВ выступали рецидив, прогрессия на терапии, смерть от токсичности, вторичная опухоль, для ОВ – любые случаи смерти на протоколе.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование вошли 79 пациентов, чей материал был доступен на момент его проведения. Клинико-демографические данные исследуемой когорты пациентов представлены в *таблице 2*.

В ходе работы был выполнен анализ выживаемости во всей исследуемой когорте пациентов. Медиана времени наблюдения составила 30,5 мес. БСВ и ОВ составили 86,3% (95% доверительный

интервал (ДИ) 78,3–94) и 86,5% (95% ДИ 78,3–94,8%) соответственно (*рисунок 1*). Полученные данные согласуются с ранее опубликованными результатами по всей группе пациентов на протоколе [8].

В дальнейшем было выполнено генетическое исследование статуса гена *TP53*. ДНК из FFPE-образцов была выделена для всех пациентов, включенных в исследование. Получить удовлетворительные результаты секвенирования удалось для 66 (84%) из 79 пациентов в связи с низким качеством материала. В ходе анализа патогенные варианты были выявлены у 17 (26%) человек, 6 из которых имели II, 5 – III, 6 – IV стадию заболевания по St. Jude. Два пациента относились ко 2-й группе риска, 12 – к 3-й и 1 – к 4-й. Всего было обнаружено 20 патогенных вариантов в кодирующей последовательности гена *TP53*: в 18 (90%) случаях – миссенс, в 1 (5%) – нонсенс, в 1 (5%) – делеция, приводящая к сдвигу рамки считывания. Все находки за исключением del-18bp (90%) представляли собой однонуклеотидные замены (SNVs), приводящие к появлению белка, утрачивающего функциональную активность,

Таблица 2
Клинико-демографические данные пациентов

Параметр Parameter	Значение Value
Число пациентов, <i>n</i> (%) Number of patients, <i>n</i> (%)	79 (100)
Пол, <i>n</i> (%): Gender, <i>n</i> (%):	
мужской male	68 (86)
женский female	11 (14)
Соотношение по полу, мужской:женский Male to female ratio	6:1
Возраст, медиана (разброс), годы Median age (range), years	9 (2–17)
Стадия по St. Jude, <i>n</i> (%): Stage in accordance with the St. Jude Staging System, <i>n</i> (%):	
I	1 (1,3)
II	18 (23)
III	25 (32)
IV	35 (44)
Группа риска, <i>n</i> (%): Risk group, <i>n</i> (%):	
1	2 (2,5)
2	17 (22)
3	58 (73)
4	2 (2,5)

Таблица 1
Последовательность праймеров, которые были использованы для получения ПЦР-фрагментов

Table 1
The sequences of primers that were used to obtain PCR fragments

Код по IARC IARC code	Последовательность праймеров (5'–3') Primer sequence (5'–3')	Направление цепи Direction	Экзон Exon	Размер ПЦР-фрагмента The size of a PCR fragment
P-312	ttcaactctgtctccttccct	F	5	248 bp
P-271	cagccctgtcgtctctccag	R	5	248 bp
P-239	gcctctgattcctcactgat	F	6	181 bp
P-240	ttaaccctcctcccagaga	R	6	181 bp
P-333	cttgccacaggtctcccaa	F	7	237 bp
P-313	aggggtcagaggcaagcaga	R	7	237 bp
P-316	ttccttactgcctcttgctt	F	8	231 bp
P-319	aggcataactgcacccttgg	R	8	231 bp

которые были отнесены прогностическими программами к повреждающим, вредным или с высокой/средней степенью опасности заменам. Биологическая значимость мутаций p.Arg213Ter и del-18bp не вызывает сомнений, поскольку обе они приводят к появлению усеченного белка p53 с нулевой активностью. Спектр найденных патогенных вариантов представлен на рисунке 2 и в таблицах 3, 4.

Прогностическое значение статуса гена *TP53* в исследуемой группе определялось с помощью показателей ОВ и БСВ (случаи с неизвестным статусом гена *TP53* в исследование не включались). Пациенты с мутациями в гене *TP53* имели значительно меньшую 5-летнюю выживаемость по сравнению с пациентами

без мутаций. Так, БСВ и ОВ у пациентов с мутацией в гене *TP53* и без нее составили 45,3% (95% ДИ 21–69,6) и 97,9% (95% ДИ 93,9–100) соответственно ($p < 0,001$) и 47,1% (95% ДИ 21,8–72,4) и 97,9% (95% ДИ 93,9–100) соответственно ($p < 0,001$) (рисунк 3). В группе с неизвестным статусом гена *TP53* событий не было, ОВ и БСВ составили 100%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Добавление ритуксимаба к стандартной терапии ЛБ позволило повысить эффективность лечения до 90% даже при редукции химиотерапии [8]. Однако наличие токсических осложнений, с одной стороны, и

Рисунок 1
Анализ БСВ (А) и ОВ (Б) по методу Каплана–Майера всей группы пациентов с ЛБ

Figure 1
A Kaplan–Meier analysis of event-free (EFS; A) and overall (OS; B) survival in the entire population of the patients with Burkitt lymphoma (BL)
CI – confidence interval

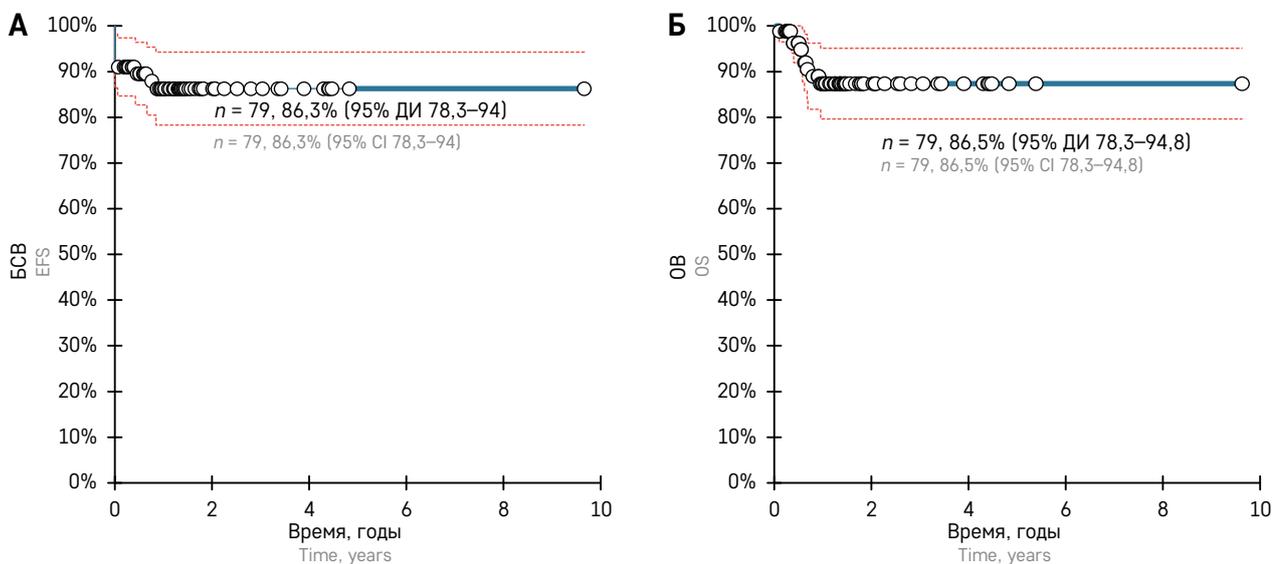


Рисунок 2
Распределение выявленных вариантов в кодирующих участках гена *TP53*

Figure 2
The distribution of the identified variants in *TP53* coding regions

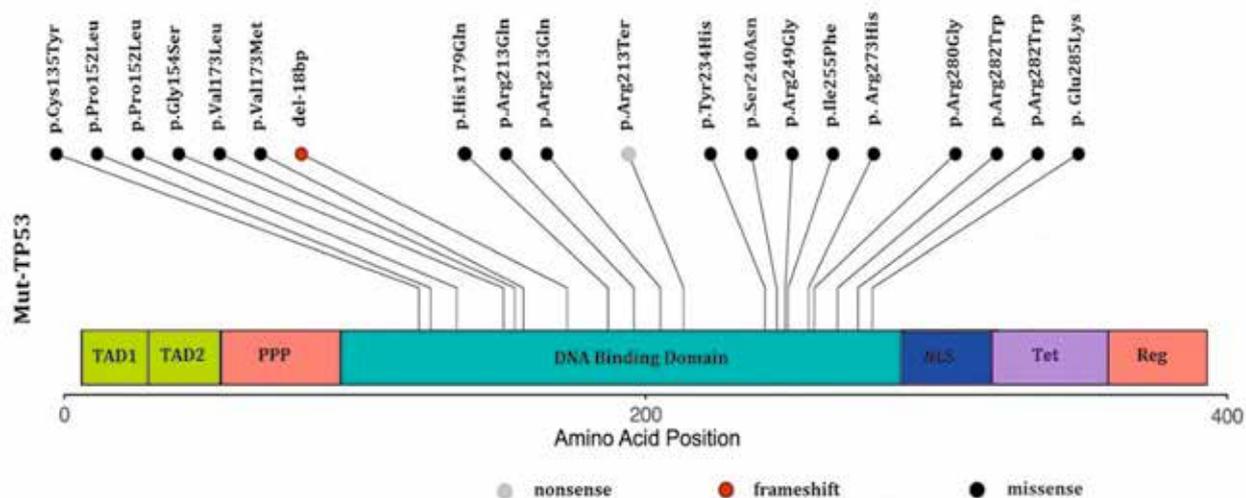


Таблица 3
Спектр патогенных вариантов в гене *TP53*

Table 3
The spectrum of pathogenic variants in the *TP53* gene

№	ID пациента Patient ID	Экзон Exon	SNVs (IDs)	c.DNA	AA	Тип Type
1	4	7	17-7577562-C-T Bibliome ID	c.719G>A	p.Ser240Asn	Missense
2	5	6	rs587778720	c.638G>A	p.Arg213Gln	Missense
3	10	5	rs112431538	c.853G>A	p. Glu285Lys	Missense
4	11	8	rs876660754	c.517G>A	p.Val173Met	Missense
5	13	6 5	rs587778720	c.638G> A c.529_546del	p.Arg213Gln del-18bp	Missense Frameshift
6	17	8	rs28934574	c.844C>T	p.Arg282Trp	Missense
7	18	7	rs587782082	c.745A>G	p.Arg249Gly	Missense
8	21	6 8	rs137852789 rs753660142	c.460G>A 15% c.838A>G 25%	p.Gly154Ser p.Arg280Gly	Missense Missense
9	32	7	rs864622237	c.700T>C	p.Tyr234His	Missense
10	36	5	rs371671127	c.455C>T	p.Pro152Leu	Missense
11	37	5	rs371671127	c.455C>T	p.Pro152Leu	Missense
12	38	5 6	rs876660754 rs397516436	c.517G> T c.637C>T	p.Val173Leu p.Arg213Ter	Missense Nonsense
13	39	8	rs28934574	c.844C>T	p.Arg282Trp	Missense
14	41	7	rs1057519995	c.763A>T	p.Ile255Phe	Missense
15	44	5	rs876660821	c.537T>G	p.His179Gln	Missense
16	47	7	rs28934576	c.818G>A	p. Arg273His	Missense
17	77	5	rs587781991	c.404G>A	p.Cys135Tyr	Missense

Таблица 4
Распределение патогенных вариантов по экзонам

Table 4
The distribution of pathogenic variants across exons

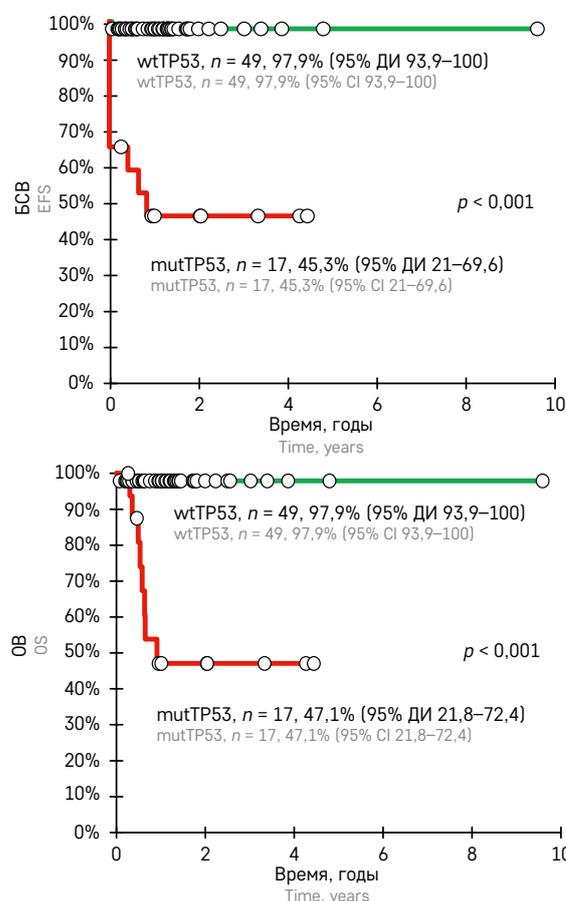
SNVs, n (%)	Экзон Exon
7 (33)	5
4 (19)	6
6 (29)	7
4 (19)	8

рецидивов и рефрактерных форм – с другой, диктует необходимость поиска дополнительных факторов риска, которые позволяли бы точнее модифицировать терапию у каждого пациента [18–20].

Крупные полногеномные/экзомные исследования у пациентов с ЛБ выявляют большое количество генетических событий, которые могут быть вовлечены в патогенез [9, 21, 22] и, как следствие, определять клиническое течение при данном типе лимфом. Одним из наиболее перспективных прогностических маркеров является мутационный статус гена *TP53*. Так, пациенты с мутациями в гене *TP53*, получавшие лечение по протоколу Inter-B-NHLritux 2010, имели достоверно худшие показатели ОВ и БСВ вне зависимости от группы риска [17]. В нашем исследовании мы также показали, что статус гена *TP53* имеет важное прогностическое значение у пациентов, получающих комбинированную терапию с добавлением ритуксимаба. Вероятно, нарушение работы этого гена в комбинации с реаранжировкой гена *c-MYC* приводит не только к избыточной пролиферации опухолевых клеток и ингибированию апоптоза, но и к высокой мутационной активности и,

Рисунок 3
БСВ (А) и ОВ (Б) в зависимости от статуса гена *TP53*
mutTP53 – пациенты с мутациями в гене *TP53*; wtTP53 – пациенты без мутаций в гене *TP53*

Figure 3
EFS (A) and OS (B) according to *TP53* mutational status
mutTP53 – patients with *TP53* mutations; wtTP53 – patients without *TP53* mutations



как следствие, к селекции рефрактерных к терапии клонов [23, 24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение статуса гена *TP53* может быть использовано в новых системах стратификации риска, позволяя выделять группы пациентов с высоким риском рецидива и нуждающихся в новых терапевтических подходах. В то же время пациенты без мутаций в гене *TP53* представляют собой группу, кому может быть показана дальнейшая редукция терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Volchkov E.V. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-2574-1636>

Olshanskaya Yu.V. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>

Novichkova G.A. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Myakova N.V. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Литература

- Alaggio R., Amador C., Anagnostopoulos I., Attygalle A.D., de Oliveira Araujo I.B., Berti E., et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* 2022; 36 (7): 1720–48. DOI: 10.1038/s41375-022-01620-2
- Thacker N., Abal O. Epidemiology of Non-Hodgkin Lymphomas in Childhood and Adolescence. In: Abal O., Attarbaschi, A. (eds) *Non-Hodgkin's Lymphoma in Childhood and Adolescence*. Springer, Cham; 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-11769-6_2.
- Patte C., Auperin A., Michon J., Behrendt H., Leverger G., Frappaz D., et al. The Société Française d'Oncologie Pédiatrique LMB89 protocol: highly effective multiagent chemotherapy tailored to the tumor burden and initial response in 561 unselected children with B-cell lymphomas and L3 leukemia. *Blood* 2001; 97 (11): 3370–9. DOI: 10.1182/blood.v97.11.3370
- Jourdain A., Auperin A., Minard-Colin V., Aladjidi N., Zsiros J., Coze C., et al. Outcome of and prognostic factors for relapse in children and adolescents with mature B-cell lymphoma and leukemia treated in three consecutive prospective “Lymphomes Malins B” protocols. A Société Française des Cancers de l'Enfant study. *Haematologica* 2015; 100 (6): 810–7. DOI: 10.3324/haematol.2014.121434
- Woessmann W., Zimmermann M., Meinhardt A., Müller S., Hauch H., Knörr F., et al. Progressive or relapsed Burkitt lymphoma or leukemia in children and adolescents after BFM-type first-line therapy. *Blood* 2020; 135 (14): 1124–32. DOI: 10.1182/blood.2019003591
- Samochatova E., Maschan A., Shelihova L., Myakova N.V., Belogurova M.B., Khlebnikova O.P., et al. Therapy of advanced-stage mature B-cell lymphoma and leukemia in children and adolescents with rituximab and reduced intensity induction chemotherapy (B-NHL 2004M protocol): the results of a multicenter study. *J Pediatr Hematol Oncol* 2014; 36 (5): 395–401. DOI: 10.1097/MPH.0b013e31829d4900
- Minard-Colin V., Auperin A., Pillon M., Amos Burke G.A., Barkauskas D.A., Wheatley K., et al. European Intergroup for Childhood Non-Hodgkin Lymphoma; Children's Oncology Group. Rituximab for High-Risk, Mature B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma in Children. *N Engl J Med* 2020; 382 (23): 2207–19. DOI: 10.1056/NEJMoa1915315
- Maschan A., Myakova N., Aleinikova O., Abugova Yu., 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-Belorussian multicentre study B-NHL-2010M. *Br J Haematol* 2019; 186 (3): 477–83. DOI: 10.1111/bjh.15944
- Love C., Sun Z., Jima D., Li G., Zhang J., Miles R., et al. The genetic landscape of mutations in Burkitt lymphoma. *Nat Genet* 2012; 44 (12): 1321–5. DOI: 10.1038/ng.2468
- Olivier M., Hollstein M., Hainaut P. *TP53* mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2 (1): a001008. DOI: 10.1101/cshperspect.a001008
- Rowh M., DeMicco A., Horowitz J., Yin B., Yang-Iott K.S., Fusello A.M., et al. *TP53* deletion in B lineage cells predisposes mice to lymphomas with oncogenic translocations. *Oncogene* 2011; 30 (47): 4757–64. DOI: 10.1038/onc.2011.191
- Xu-Monette Z., Medeiros L., Li Y., Orłowski R.Z., Andreeff M., Bueso-Ramos C.E., et al. Dysfunc-

- tion of the TP53 tumor suppressor gene in lymphoid malignancies. *Blood* 2012; 119 (16): 3668–83. DOI: 10.1182/blood-2011-11-366062
13. Leventaki V., Rodic V., Tripp S., Bayerl M.G., Perkins S.L., Barnette P., et al. TP53 pathway analysis in paediatric Burkitt lymphoma reveals increased MDM4 expression as the only TP53 pathway abnormality detected in a subset of cases. *Br J Haematol* 2012; 158 (6): 763–71. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2012.09243.x
 14. Lacy S., Barrans S., Beer P., Painter D., Smith A.G., Roman E., et al. Targeted sequencing in DLBCL, molecular subtypes, and outcomes: a Haematological Malignancy Research Network report. *Blood* 2020; 135 (20): 1759–71. DOI: 10.1182/blood.2019003535
 15. Xu-Monette Z., Wu L., Visco C., Tai Y.C., Tzankov A., Liu W., et al. Mutational profile and prognostic significance of TP53 in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP: report from an International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood* 2012; 120 (19): 3986–96. DOI: 10.1182/blood-2012-05-433334
 16. Zenz T., Kreuz M., Fuge M., Klapper W., Horn H., Staiger A.M., et al. TP53 mutation and survival in aggressive B cell lymphoma. *Int J Cancer* 2017; 141 (7): 1381–8. DOI: 10.1002/ijc.30838
 17. Newman A., Zaka M., Zhou P., Blain A.E., Erhorn A., Barnard A., et al. Genomic abnormalities of TP53 define distinct risk groups of paediatric B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Leukemia* 2022; 36 (3): 781–9. DOI: 10.1038/s41375-021-01444-6
 18. Srinivasan S., Roy Moulik N., Kc A., Narula G., Sankaran H., Prasad M., et al. Increased toxicities in children with Burkitt lymphoma treated with rituximab: experience from a tertiary cancer center in India. *Pediatr Blood Cancer* 2020; 67 (11): e28682. DOI: 10.1002/pbc.28682
 19. Ehrhardt M., Chen Y., Sandlund J., Bluhm E.C., Hayashi R.J., Bechtel K., et al. Late health outcomes after contemporary lymphoma Malin de Burkitt therapy for mature B-Cell Non-Hodgkin lymphoma: a report from the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol: Off J Am Soc Clin Oncol* 2019; 37 (28): 2556–70. DOI: 10.1200/JCO.19.00525
 20. Attarbaschi A., Carraro E., Ronc-ray L., Andrés M., Barzilai-Birenboim S., Bomken S., et al. Second malignant neoplasms after treatment of non-Hodgkin's lymphoma—a retrospective multinational study of 189 children and adolescents. *Leukemia* 2020; 35 (2): 534–49. DOI: 10.1038/s41375-020-0841-x
 21. Panea R., Love C., Shingleton J., Reddy A., Bailey J.A., Moormann A.M., et al. The whole genome landscape of Burkitt lymphoma subtypes. *Blood* 2019; 134 (19): 1598–607. DOI: 10.1182/blood.2019001880
 22. Grande B., Gerhard D., Jiang A., Griner N.B., Abramson J.S., Alexander T.B., et al. Genome-wide discovery of somatic coding and non-coding mutations in pediatric endemic and sporadic Burkitt lymphoma. *Blood* 2019; 133 (12): 1313–24. DOI: 10.1182/blood-2018-09-871418
 23. Griesmann H., Schlereth K., Krause M., Samans B., Stiewe T. p53 and p73 in suppression of Myc-driven lymphomagenesis. *Int J Cancer* 2009; 124 (2): 502–6. DOI: 10.1002/ijc.23978
 24. Yu L., Yu T., Young K. Cross-talk between Myc and p53 in B-cell lymphomas. *Chronic Dis Transl Med* 2019; 5 (3): 139–54. DOI: 10.1016/j.cdtm.2019.08.001

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-63-72

Применение блинатумомаба у детей с первичным Rh-негативным В-линейным острым лимфобластным лейкозом и медленным клиренсом минимальной остаточной болезни

А.М. Попов¹, Ю.В. Румянцева^{1,2}, Е.В. Михайлова¹, О.И. Быданов¹, Е.А. Зеркаленкова¹, Ю.В. Ольшанская¹, Т.Ю. Вержбицкая^{3,4}, Ж.В. Пермикин^{3,5}, Г.А. Цаур³⁻⁵, С.Н. Лагойко¹, Л.И. Жарикова^{1,2}, Н.В. Мякова¹, Н.И. Пономарева⁶, Э.Г. Бойченко⁷, Л.Г. Фечина^{3,4}, Г.А. Новичкова¹, А.И. Карачунский^{1,2}

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

²ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

⁴ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

⁵ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург

⁶Российская детская клиническая больница – филиал ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

⁷СПб ГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий», Санкт-Петербург

Дети с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) и медленным клиренсом минимальной остаточной болезни (МОБ) имеют существенно худший прогноз по сравнению с теми, кто демонстрирует быстрый ответ на проводимую химиотерапию. Биспецифическое моноклональное антитело блинатумомаб является ключевым препаратом для CD19-направленной иммунотерапии и предоставляет широкие возможности для элиминации МОБ при ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ). Цель исследования – оценить эффективность применения блинатумомаба для элиминации МОБ у детей с ВП-ОЛЛ и медленным клиренсом МОБ при терапии по протоколу «ОЛЛ-МБ 2015». Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В исследование были включены пациенты исследования «ОЛЛ-МБ 2015», которые по итогам индукционной терапии имели замедленный клиренс МОБ. Мониторинг МОБ проводился методом многоцветной проточной цитометрии с адаптацией методики к возможной потере CD19 при таргетной терапии. МОБ-позитивностью считалось количество опухолевых клеток $\geq 0,001\%$ среди всех клеток костного мозга. В период с февраля 2020 г. по август 2023 г. 228 пациентов с первичным Rh-негативным, *KMT2A*-негативным ВП-ОЛЛ были классифицированы как имеющие медленный МОБ-ответ согласно критериям группы «Москва–Берлин», из них 50 по этой причине получили как минимум 1 курс блинатумомаба. Сразу после индукции курс блинатумомаба получили 23 человека, после консолидации I – 14 пациентов, после консолидации II – 11 детей, еще 2 человека – непосредственно перед поддерживающей терапией. После курса блинатумомаба 23 пациента продолжили терапию по протоколу, 21 – сразу получили поддерживающую терапию, 2 – блоки высокого риска, а 4 была проведена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Из 50 пациентов в исследуемой группе только 2 (4,0%) человека остались МОБ-позитивными после завершения курса блинатумомаба. На 31.12.2023 было зарегистрировано лишь 2 неблагоприятных события: 1 рецидив и 1 смерть в ремиссии. Двухлетняя бессобытийная выживаемость составила 94,7% (стандартная ошибка 3,6%), а кумулятивная частота рецидивов – 2,6% (стандартная ошибка 2,7%), что было существенно лучше, чем у 178 пациентов с медленным МОБ-ответом, не получивших блинатумомаб. Применение блинатумомаба у детей с первичным Rh-негативным ВП-ОЛЛ и медленным клиренсом МОБ позволяет достичь МОБ-негативной ремиссии практически у всех пациентов. Несмотря на то, что необходим больший период наблюдения для окончательного вывода о применении CD19-направленной иммунотерапии, получены многообещающие результаты лечения, позволяющие предположить высокую эффективность блинатумомаба в данной прогностически неблагоприятной группе пациентов.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, блинатумомаб, минимальная остаточная болезнь

Попов А.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 63–72.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-63-72

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 19.02.2024
Принята к печати 11.03.2024



EDN: GDNSNG

Контактная информация:

Попов Александр Михайлович,
канд. мед. наук, заведующий лабораторией
иммунофенотипирования гемобластозов
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: uralcytometry@gmail.com

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 19.02.2024

Accepted 11.03.2024

The use of blinatumomab in children with *de novo* Ph-negative B-lineage acute lymphoblastic leukemia and slow clearance of minimal residual disease

A.M. Popov¹, Yu.V. Romyantseva^{1,2}, E.V. Mikhailova¹, O.I. Bydanov¹, E.A. Zerkalenkova¹, Yu.V. Olshanskaya¹, T.Yu. Verzhbitskaya^{3,4}, Zh.V. Permikin^{3,5}, G.A. Tsaur^{3,5}, S.N. Lagoyko¹, L.I. Zharikova^{1,2}, N.V. Myakova¹, N.I. Ponomareva⁶, E.G. Boychenko⁷, L.G. Fechina^{3,4}, G.A. Novichkova¹, A.I. Karachunski^{1,2}

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

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

³Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg

⁴Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg

⁵Ural State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Yekaterinburg

⁶Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

⁷Children's City Multidisciplinary Clinical Specialized Center of High Medical Technologies, Saint Petersburg

Correspondence:

Alexander M. Popov,
Cand. Med. Sci., Head of Leukemia
Immunophenotyping Laboratory
at the Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology of Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: uralcytometry@gmail.com

Children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and slow clearance of minimal residual disease (MRD) demonstrate a significantly worse outcome as compared to those with fast response to chemotherapy. Bispecific monoclonal antibody blinatumomab is the key drug for CD19-directed immunotherapy which opens wide opportunities for the elimination of MRD in patients with B-cell precursor ALL (BCP-ALL). Aim of the study – to evaluate the effectiveness of blinatumomab for MRD elimination in children with BCP-ALL and slow MRD clearance treated by the "ALL-MB 2015" protocol. 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. Patients from the "ALL-MB 2015" trial who demonstrated slow MRD clearance at the end of induction were included in the current study. MRD monitoring was performed by multicolor flow cytometry modified with respect to possible CD19 loss during targeted treatment. Threshold of 0.001% was used for MRD positivity definition. Between February 2020 and August 2023, 228 children with *de novo* Ph-negative *KMT2A*-negative BCP-ALL were defined as slow MRD responders according to the criteria of the "Moscow-Berlin" group. Fifty of them were treated with blinatumomab because of slow MRD clearance. Blinatumomab course was given immediately after induction in 23 children, after Consolidation I – in 14 patients, after Consolidation II – in 11 patients, while two children received immunotherapy prior to maintenance. After completion of blinatumomab course, 23 patients continued protocol treatment, 21 received maintenance only, two were treated with high-risk blocks and four received hematopoietic stem cell transplantation. Only 2 of 50 (4.0%) patients remained MRD-positive after completion of blinatumomab course. By the end of December 2023, only two adverse events were registered: one relapse and one remission death. Two-year event-free survival was 94.7% (standard error 3.6%), while cumulative incidence of relapse was 2.6% (standard error 2.7%). Outcome in these 50 patients was much better in comparison with 178 children with a slow MRD response who did not receive blinatumomab. The use of blinatumomab in children with *de novo* Ph-negative BCP-ALL with slow MRD clearance allows achieving MRD-negative remission in nearly all cases. Although a longer follow-up is necessary for the reliable conclusion of CD19-directed therapy effectiveness, the promising results are obtained in the current study in this unfavorable patient group.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, blinatumomab, minimal residual disease

Popov A.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 63–72.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-63-72

Скорость ответа на терапию, определяемая по кинетике редукции опухоли в костном мозге (КМ), является одним из ключевых прогностических факторов при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) у детей [1–3]. Мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) при помощи высокочувствительных молекулярно-генетических методов или многоцветной проточной цитометрии, позволяющих выявить 1 опухолевую клетку среди 100 000 нормальных, существенно расширил возможности оценки ответа на терапию по сравнению с «классическим» цитологическим исследованием КМ или периферической крови [4]. Пациенты с медленным клиренсом МОБ имеют существенно худший прогноз по сравнению с теми, кто демонстрирует быстрый ответ на проводимую химиотерапию. При ОЛЛ у детей ключевыми временными точками оценки МОБ являются ранние этапы терапии [5–8], что позволяет существенно модифицировать протокол лечения в зависимости от кинетики элиминации опухолевого клона. Однако простая интенсификация химиотерапии даже в комбинации с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) не позволяет добиться существенного снижения частоты рецидивов [8–11], в то же время значительно увеличивая токсичность. Широкое распространение и

внедрение в повседневную практику иммунотерапевтических препаратов, прежде всего моноклональных антител, позволило существенно расширить возможности воздействия на сохраняющуюся популяцию бластов [12, 13]. Блинатумомаб, биспецифическая конструкция из антител к CD19 и CD3 [14], прекрасно зарекомендовал себя как средство для достижения МОБ-негативной ремиссии и улучшения результатов лечения у детей с рецидивами и рефрактерными формами ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) [15–17]. Такие результаты привели и к внедрению блинатумомаба в протоколы лечения детей с первичным ВП-ОЛЛ, прежде всего для отдельных специфических групп пациентов [12, 13, 18, 19], но также и для больных с медленным клиренсом МОБ.

Цель исследования – оценить эффективность применения блинатумомаба для элиминации МОБ у детей с ВП-ОЛЛ и медленным клиренсом МОБ при терапии по протоколу «ОЛЛ-МБ 2015».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Пациенты

В исследуемую группу включали детей с ОЛЛ при соблюдении следующих критериев:

- ВП-ОЛЛ, подтвержденный в референс-лаборатории исследования [20];
- возраст от 1 года до 18 лет;
- терапия по протоколу «ОЛЛ-МБ 2015»;
- соблюдение всех правил участия в исследовании «ОЛЛ-МБ 2015» (исследуемые пациенты);
- определение МОБ на момент окончания индукционной терапии в одной из лабораторий, включенных в российско-белорусскую кооперативную группу по диагностике острых лейкозов у детей [21, 22];
- отсутствие хромосомных aberrаций высокого цитогенетического риска;
- медленный клиренс МОБ.

Всем пациентам проводились диагностические цитоморфологическое, иммунофенотипическое, цитогенетическое и молекулярно-генетическое исследования согласно стандартам группы «Москва-Берлин» [20, 23].

Протокол терапии

В протоколе «ОЛЛ-МБ 2015» не было как таковой стратификации на группы риска, пациенты разделялись на несколько так называемых терапевтических групп [24], однако данное разделение для ВП-ОЛЛ было практически полностью основано на системе стратификации протокола «ОЛЛ-МБ 2008» с выделением в отдельную группу детей старше 15 лет и пациентов с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ [24]. Стратификация на группы риска протокола «ОЛЛ-МБ 2008» детально описана нами ранее [25–28]. Пациенты с ВП-ОЛЛ стратифицировались в группу стандартного риска при соблюдении всех следующих условий: инициальный лейкоцитоз менее $30 \times 10^9/\text{л}$, размер селезенки менее 4 см от края реберной дуги, нет поражения центральной нервной системы (ЦНС) (ЦНС-3 статуса), отсутствие транслокации $t(4;11)(q21;q23)/KMT2A::AFF1$ или $t(9;22)(q34;q11)/BCR::ABL1$ [27, 29]. Пациенты с инициальным лейкоцитозом (менее $100 \times 10^9/\text{л}$), не имеющие данных цитогенетических aberrаций, но не соответствующие критериям группы стандартного риска, были стратифицированы в группу промежуточного риска [25]. Наконец, дети с лейкоцитозом более $100 \times 10^9/\text{л}$ или с указанными цитогенетическими aberrациями получали терапию по программе группы высокого риска [26, 28]. В эту группу также рестратифицировались по окончании индукции все пациенты, не достигшие клинико-гематологической ремиссии. Индукционная и последующая терапия протокола «ОЛЛ-МБ 2015» детально описана ранее [24, 30]. Индукция ремиссии состояла из ежедневного приема дексаметазона в суточной дозе $6 \text{ мг}/\text{м}^2$

с постепенной отменой после 28-го дня терапии, однократной инфузии ПЭГ-аспарагиназы в дозе $1000 \text{ ЕД}/\text{м}^2$ на 3-и сутки индукции, внутривенных болюсных еженедельных введений винкристина в дозе $1,5 \text{ мг}/\text{м}^2$ №5, однократного введения даунорубицина в дозе $45 \text{ мг}/\text{м}^2$ для больных группы стандартного риска и повторного введения даунорубицина в такой же дозе на 22-е сутки терапии для больных группы промежуточного и высокого риска, еженедельных интратекальных введений триплета (метотрексат, цитозар и дексаметазон) в возрастной дозировке. Больным, которые по критериям исследования «ALL-MB 2008» на момент диагноза были отнесены к группе стандартного риска, в случае обнаружения $\geq 10\%$ лейкемических клеток в КМ на 15-е сутки индукции проводилось 2-е введение даунорубицина в дозе $45 \text{ мг}/\text{м}^2$ на 22-е сутки индукции. После окончания индукционной терапии (36-й день) для пациентов с медленным клиренсом МОБ на одном из этапов протокола был предусмотрен 4-недельный курс блинатумаба (1-я неделя – доза $5 \text{ мкг}/\text{м}^2/\text{сут}$, затем – $15 \text{ мкг}/\text{м}^2/\text{сут}$). Дальнейшая терапия включала различные комбинации блоков протокола «ОЛЛ-МБ 2015» или ТГСК. В случае недоступности блинатумаба продолжалась терапия по протоколу «ОЛЛ-МБ 2015» [24].

Мониторинг минимальной остаточной болезни

Определение МОБ на 36-й день терапии проводили в образцах КМ методом проточной цитометрии по ранее описанной методике [22]. Образцы КМ считали МОБ-позитивными при величине МОБ $\geq 0,001\%$. Величина МОБ выражалась как процентное содержание опухолевых бластов среди нормальных клеток КМ. В соответствии с разработанным по результатам исследования «ОЛЛ-МБ 2008» алгоритмом применения МОБ для стратификации пациентов [26, 28] скорость ее клиренса определялась по следующим критериям: в группу с медленным МОБ-ответом попадают пациенты группы стандартного риска с МОБ на 36-й день терапии $\geq 0,1\%$ и пациенты групп промежуточного и высокого риска с МОБ на 36-й день терапии $\geq 0,01\%$. Дальнейший мониторинг МОБ осуществлялся при необходимости на 85-й и/или 141-й дни терапии [31], а также в точках наблюдения, предусмотренных при применении блинатумаба или проведении ТГСК. После курса CD19-направленной терапии определение МОБ проводилось по модифицированной методике [32, 33], учитывающей возможную потерю опухолевыми клетками таргетируемого антигена CD19 [34–36].

Статистический анализ

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение XLSTAT v2020.4.1.

Результаты терапии оценивали по кривым бессобытийной выживаемости (БСВ), построенным по методу Каплана–Майера [37], а также по кумулятивной частоте развития рецидива (КЧР). Стандартную ошибку рассчитывали по формуле Гринвуда [38]. БСВ определялась как время от диагностики ОЛЛ до первого события (рецидив, смерть вследствие любой причины как первое событие, вторая опухоль) либо последнего контакта с пациентом, если неблагоприятное событие не было зарегистрировано. Для сравнения кривых использовали непараметрический критерий log-rank [39]. КЧР определяли путем оценки конкурирующих рисков согласно методике J. Kalbfleisch, R. Prentice [40], для сравнения кривых использовали критерий Грея [41].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В период с февраля 2020 г. по август 2023 г. 228 пациентов с первичным Rh-негативным, *KMT2A*-негативным ВП-ОЛЛ были классифицированы как имеющие медленный МОБ-ответ согласно критериям группы «Москва–Берлин», из них 50 получили по этой причине как минимум 1 курс блинатумомаба. Краткая характеристика исследуемой группы в сравнении с пациентами, не получившими блинатумомаб ($n = 178$), представлена в *таблице*. Все пациенты исследуемой группы имели высокий (с учетом изначально установленной группы риска) уровень МОБ по окончании индукционной терапии (*рисунок 1А*). Кроме того, 10 (20,0%) из 50 пациентов имели уровень МОБ более 1%, т. е. у них цитометрически не было подтверждено достижение ремиссии по окончании индукционной терапии. Еще у 3 пациентов отсутствие ремиссии было определено по другим критериям.

Сразу после индукции курс блинатумомаба получили 23 человека (1 ребенок – 2 курса), для 11 из них после окончания курса был продолжен протокол в соответствии с группой риска, 10 получили только поддерживающую терапию по протоколу «ОЛЛ-МБ 2015», 1 – терапию согласно плану для группы высокого риска (блоки HR [42]), а еще 1 – аллогенную ТГСК. Среди 27 детей, получивших блинатумомаб на более поздних этапах лечения, у 24 было проведено определение МОБ на 85-й день (*рисунок 1Б*). Среди них 5 (20,8%) человек достигли МОБ-негативности, остальные сохраняли МОБ на различном уровне. После консолидации I курс блинатумомаба был проведен 14 пациентам, у 8 из них далее был продолжен запланированный протокол, а 6 получили только поддерживающую терапию. Среди 13 оставшихся пациентов у 11 МОБ определялась также на 141-й день терапии, и по-прежнему большинство детей (7 из 11, 63,6%) сохраняли детектируемую

МОБ. На этом этапе курс блинатумомаба получили 11 человек, 3 из них в дальнейшем продолжили лечение по протоколу, 4 получили только поддерживающую терапию, 1 – интенсификацию блоками высокого риска, а 3 были трансплантированы. Наконец, 2 пациента получили 1 ($n = 1$) или 2 ($n = 1$) курса блинатумомаба непосредственно перед поддерживающей терапией.

Из 50 пациентов в исследуемой группе только 2 (4,0%) человека остались МОБ-позитивными после завершения курса блинатумомаба (уровень МОБ у обоих $\geq 0,01\%$, но $< 0,1\%$). Именно эти пациенты и получили интенсификацию блоками высокого риска. На 31.12.2023 было зарегистрировано лишь 2 неблагоприятных события: 1 рецидив и 1 смерть в ремиссии. Комбинированный (КМ + ЦНС) ранний (11 мес от начала терапии) рецидив по типу «переключения линий» произошел у пациента с перестройкой *IGH::DUX4*. Ребенок с инициальным лейкоцитозом $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ (группа высокого риска согласно стратификации «ОЛЛ-МБ 2008» [26]) достиг ремиссии на 36-й день терапии, но сохранял при этом относительно высокую МОБ (0,496%). Несмотря на достижение МОБ-негативности к 85-му дню терапии, получил курс блинатумомаба после консолидации I и сохранил МОБ-негативную ремиссию. Однако еще на 15-й день терапии пациент продемонстрировал так называемое раннее моноцитарное переключение [43], типичное для детей с ВП-ОЛЛ и перестройкой гена *DUX4* [44, 45], а в дальнейшем рецидивировал как острый миелоидный лейкоз с сохранением клональной структуры опухоли. Смерть в ремиссии была зарегистрирована у 1 из 2 пациентов, сохранивших МОБ после курса блинатумомаба и лечившихся далее блоками высокого риска.

БСВ на срок наблюдения 24 мес составила $94,7 \pm 3,6\%$, а КЧР – $2,6 \pm 2,7\%$ (*рисунок 2*), в то время как у 11 пациентов, у которых срок наблюдения был уже более 2 лет, также не было зарегистрировано ни одного события. Показатели выживаемости в исследуемой группе были сравнены с результатами лечения 178 детей с медленным МОБ-ответом, не получивших блинатумомаб по причине его недоступности в соответствующих лечебных учреждениях (*рисунок 3*). Пациенты группы сравнения имели худшие 3-летние показатели выживаемости: БСВ $75,2 \pm 4,0\%$, КЧР $22,2 \pm 3,9\%$. В то же время для этой группы 2-летние показатели выживаемости отличались от исследуемых пациентов не столь существенно (БСВ $87,4 \pm 2,7\%$, КЧР $10,9 \pm 2,5\%$), что и привело к отсутствию статистически значимых различий на данном этапе наблюдения ($p = 0,103$ и $p = 0,064$ соответственно для БСВ и КЧР). Важно отметить, что даже для 13 пациентов, не достигших

ремиссии к окончанию индукции по данным проточной цитометрии или по иным признакам, применение блинатумомаба привело к существенному улучшению результатов лечения по сравнению с 50 такими же пациентами, не получившими CD19-направленную иммунотерапию (рисунок 4): 2-летняя БСВ 100% и $73,9 \pm 6,9\%$, КЧР 0% и $24,1 \pm 6,8\%$, $p = 0,048$ и $p = 0,052$ соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биспецифическое антитело блинатумомаб, используемое для CD19-направленной иммунотерапии ВП-ОЛЛ, прекрасно себя зарекомендовало при лечении рецидивов и рефрактерных форм опухоли у детей и взрослых [13, 15, 46–48]. Применение данного

Таблица

Краткая характеристика пациентов, включенных в исследование

Table

Characteristics of patients included in the study

Параметр Parameter	Пациенты, получавшие блинатумомаб, n (%) Patients who received blinatumomab n (%)	Пациенты, не получавшие блинатумомаб n (%) Patients who received no blinatumomab n (%)	p
Всего Total	50 (100)	178 (100)	
Пол: Sex:			
мальчики boys	24 (48,0)	107 (60,1)	0,126
девочки girls	26 (52,0)	71 (39,9)	
Возраст: Age:			
< 10 лет < 10 years	31 (62,0)	117 (65,7)	0,625
≥ 10 лет ≥ 10 years	19 (38,0)	61 (34,3)	
Инициальный лейкоцитоз: Initial leukocytosis:			
< $50 \times 10^9/\text{л}$ < $50 \times 10^9/\text{L}$	37 (74,0)	124 (69,7)	0,552
≥ $50 \times 10^9/\text{л}$ ≥ $50 \times 10^9/\text{L}$	13 (26,0)	54 (30,3)	
Инициальная группа риска (по «ОЛЛ-МБ 2008»): Initial risk group (according to "ALL-MB 2008"):			
стандартная standard	17 (34,0)	50 (28,1)	0,675
промежуточная intermediate	27 (54,0)	101 (56,7)	
высокая high	6 (12,0)	27 (15,2)	
«Стероидный» ответ*: Steroid response*:			
хороший good	45 (90,0)	160 (89,9)	0,765
плохой poor	3 (6,0)	13 (7,3)	
нет данных no data	2 (4,0)	5 (2,8)	
Статус КМ на 15-й день терапии**: BM status on day 15 of treatment**:			
M1	28 (56,0)	99 (55,6)	0,366
M2	14 (28,0)	35 (19,7)	
M3	7 (14,0)	36 (20,2)	
нет данных no data	1 (2,0)	8 (4,5)	
Достижение ремиссии на 36-й день терапии: Achievement of remission on day 36 of treatment:			
да yes	37 (74,0)	128 (71,9)	0,770
нет no	13 (26,0)	50 (28,1)	
t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1:			
да yes	5 (10,0)	13 (7,3)	0,532
нет no	45 (90,0)	165 (92,7)	
Инициальное поражение ЦНС (ЦНС-3 статус): Initial CNS involvement (CNS-3 status):			
да yes	3 (6,0)	13 (7,3)	0,750
нет no	47 (94,0)	165 (92,7)	

Примечание. * – плохой «стероидный» ответ: ≥ 1000 бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии; ** – M1-статус КМ – менее 5% бластов; M2-статус КМ – 5–25% бластов; M3-статус КМ – 25% бластов и более.

Note. * – poor steroid response: ≥ 1000 blasts in 1 μL of peripheral blood on day 8 of treatment; ** – M1 BM status – $< 5\%$ blasts; M2 BM status – 5–25% blasts; M3 BM status – $\geq 25\%$ blasts. BM – bone marrow; CNS – central nervous system.

Рисунок 1

Результаты определения МОБ в исследуемой группе пациентов ($n = 50$) на 36-й (А; $n = 50$), 85-й (Б; $n = 24$) и 141-й (В; $n = 11$) дни терапии

Figure 1

Minimal residual disease (MRD) levels in the group of interest ($n = 50$) on treatment days 36 (A; $n = 50$), 85 (Б; $n = 24$), and 141 (В; $n = 11$)

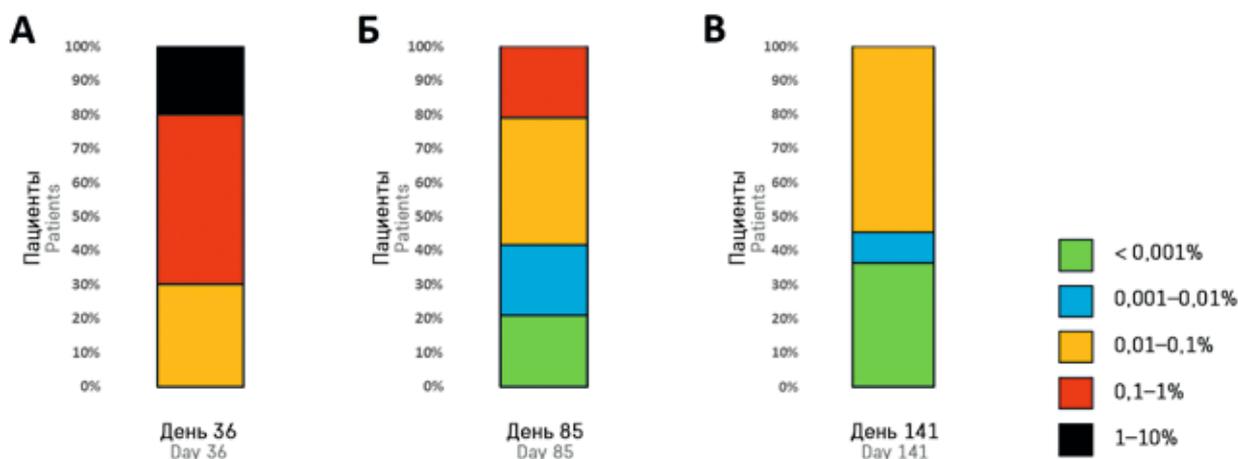


Рисунок 2

Двухлетняя БСВ (А) и 2-летняя КЧР (Б) в исследуемой группе пациентов ($n = 50$)

Figure 2

The 2-year event-free survival (EFS; А) and the 2-year cumulative incidence of relapse (CIR; Б) in the group of interest ($n = 50$)

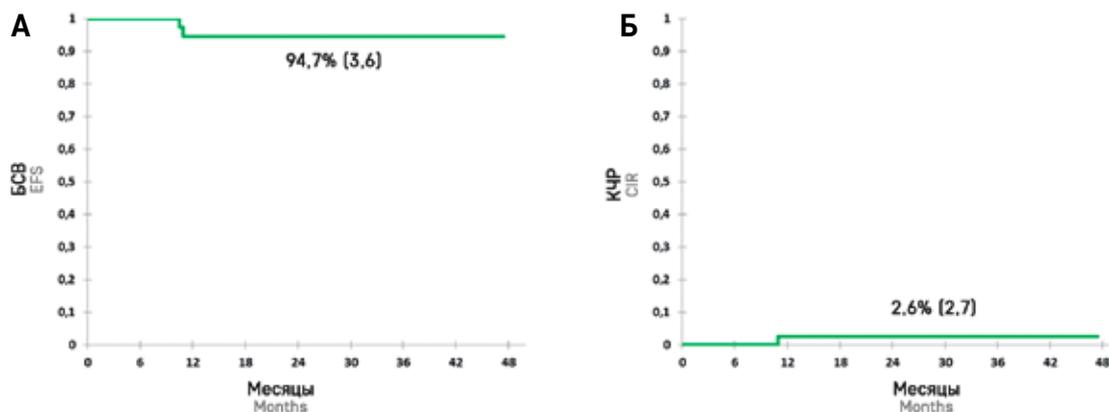


Рисунок 3

Сравнение результатов терапии детей исследуемой группы ($n = 50$; пунктирная зеленая линия) и пациентов с медленным МОБ-ответом, не получавших иммунотерапию ($n = 178$; сплошная красная линия). Представлены 2-летняя БСВ (А) и 2-летняя КЧР (Б). Временная точка сравнения кривых показана черной пунктирной линией

Figure 3

A comparison of treatment outcomes of the patients from the study group ($n = 50$; green dashed line) with those of the patients with a slow MRD response who received no immunotherapy ($n = 178$; red solid line)

The figure shows the 2-year EFS (А) and the 2-year CIR (Б). The time point at which the difference in the EFS and CIR curves was measured is shown as a black dashed line

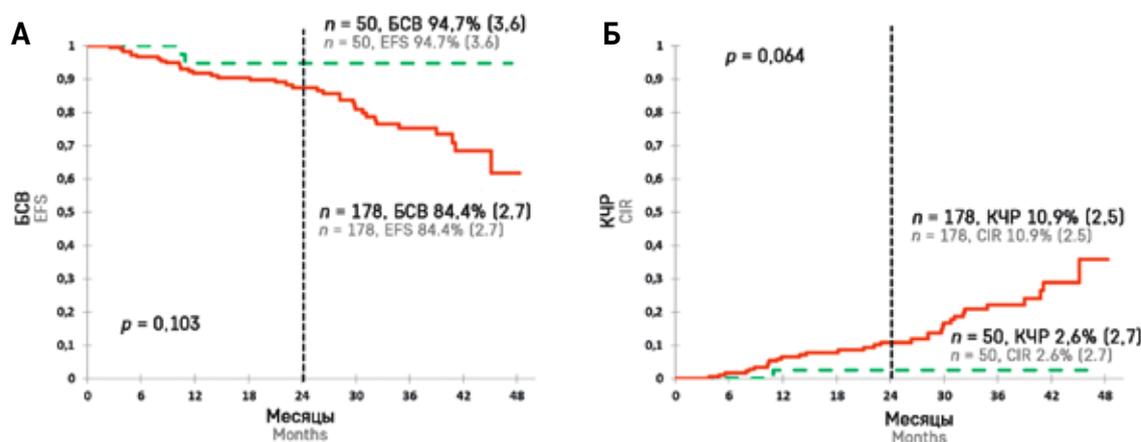


Рисунок 4

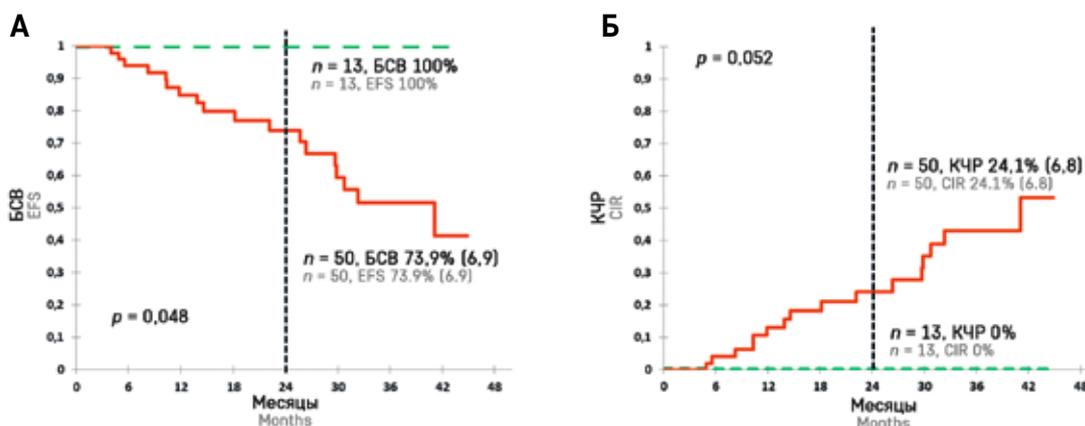
Сравнение результатов терапии у не вышедших в ремиссию к окончанию индукции пациентов исследуемой группы ($n = 13$; пунктирная зеленая линия) и аналогичных больных, не получавших иммунотерапию ($n = 50$; сплошная красная линия)

Представлены 2-летняя БСВ (А) и 2-летняя КЧР (Б). Временная точка сравнения кривых показана черной пунктирной линией

Figure 4

A comparison of treatment outcomes of the patients from the study group who did not achieve remission by the end of induction ($n = 13$; green dashed line) with those of the patients who did not achieve remission by the end of induction and received no immunotherapy ($n = 50$; red solid line)

The figure shows the 2-year EFS (A) and the 2-year CIR (B). The time point at which the difference in the EFS and CIR curves was measured is shown as a black dashed line



препарата при первичном ВП-ОЛЛ пока в основном ограничивается специфическими категориями пациентов: с синдромом Дауна или дети первого года жизни с *KMT2A*-позитивным ОЛЛ [12, 18, 19]. В то же время пациенты с медленным МОБ-ответом представляются очевидными кандидатами на такую иммунотерапию, поскольку до настоящего времени не удалось существенно улучшить результаты лечения в этой прогностически неблагоприятной группе, несмотря на интенсификацию химиотерапии и широкое применение ТГСК [8–11, 42]. Еще в большей степени такая терапия целесообразна для детей, не достигших ремиссии к окончанию индукционной терапии [49–52].

В нашем исследовании, включающем 50 пациентов с ВП-ОЛЛ, не имеющих генетических перестроек высокого цитогенетического риска, и с медленным клиренсом МОБ блинатумомаб показал высокую эффективность в элиминации остаточных опухолевых клеток. Лишь 2 (4%) пациента не достигли МОБ-негативности по окончании 1 курса блинатумомаба. Следует отметить, что все эти пациенты имели высокую МОБ на момент окончания индукционной терапии, а также большинство из них сохраняли МОБ-позитивность и по окончании консолидации I, что является крайне неблагоприятным прогностическим фактором [31, 53]. При терапии по современным протоколам группы «Москва–Берлин» пациенты с медленным МОБ-ответом имеют БСВ менее 70% [52, 54], в то время как в данном исследовании удалось достичь гораздо лучших показателей выживаемости. Конечно, у пациентов с замедленным клиренсом МОБ большая часть рецидивов обычно

происходит на более поздних сроках, поэтому окончательный вывод об эффективности блинатумомаба можно будет сделать позднее, но очевидный тренд в разнице БСВ и КЧР (рисунок 3) между пациентами, получавшими блинатумомаб, и теми, кто лечился по стандартной схеме, позволяет ожидать дальнейшего подтверждения полученных многообещающих результатов. Кроме того, блинатумомаб оказался эффективен и у пациентов, не достигших ремиссии к окончанию индукционной терапии. Эти пациенты имеют крайне неблагоприятный прогноз [50–52], а рецидивы у них случаются рано. В этой небольшой группе на данный момент удалось избежать рецидивов при применении иммунотерапии, в то время как при продолжении химиотерапии к 2 годам наблюдения рецидивировал каждый четвертый пациент, а к 3 годам – более 40% детей. Полученные результаты опровергают даже сделанное ранее предположение, что блинатумомаб может быть эффективен только у пациентов с медленным МОБ-ответом, достигших ремиссии к окончанию индукции, в то время как для тех, кто не выходит в ремиссию, невозможно избежать интенсификации терапии и ТГСК [52]. В представленном исследовании даже для таких пациентов интеграция иммунотерапии в протокол химиотерапии позволила добиться многообещающих результатов.

В настоящее время относительно мало работ по применению блинатумомаба у детей с первичным ВП-ОЛЛ [12, 18, 19, 55], особенно у пациентов, отобранных только по скорости клиренса МОБ. В недавно опубликованной работе A. Hodder и соавт. представлены результаты, полностью сопоставимые

с полученными нами данными и также подтверждающие эффективность блинатумомаба как средства достижения МОБ-негативной ремиссии и улучшения прогноза у пациентов с медленным ответом на терапию [55].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение блинатумомаба у детей с первичным Rh-негативным ОЛЛ и медленным клиренсом МОБ позволяет достичь МОБ-негативной ремиссии практически у всех пациентов, в том числе и тех, кто не вышел в ремиссию по окончании индукционной терапии. Несмотря на то, что необходим большой период наблюдения для окончательного вывода о применении CD19-направленной иммунотерапии, получены многообещающие результаты лечения, позволяющие предположить высокую эффективность

блинатумомаба в данной прогностически неблагоприятной группе пациентов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>

Rumyantseva Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9670-3728>

Mikhailova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3450-0498>

Bydanov O.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3232-2322>

Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>

Verzhbitskaya T.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9329-1828>

Lagoyko S.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3793-104X>

Zharikova L.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1105-8676>

Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Fechina L.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1885-3912>

Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Karachunskiy A.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9300-198X>

Литература

- Pui C.H. Precision medicine in acute lymphoblastic leukemia. *Front Med* 2020; 14 (6): 689–700.
- Inaba H., Pui C.H. Advances in the Diagnosis and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Med* 2021; 10 (9): 1926.
- Hunger S.P., Mullighan C.G. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med* 2015; 373 (16): 1541–52.
- van Dongen J.J., van der Velden V.H., Brüggemann M., Orfao A. Minimal residual disease diagnostics in acute lymphoblastic leukemia: need for sensitive, fast, and standardized technologies. *Blood* 2015; 125 (26): 3996–4009.
- Basso G., Veltroni M., Valsecchi M.G., Dworzak M.N., Ratei R., Silvestri D., et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. *J Clin Oncol* 2009; 27 (31): 5168–74.
- Borowitz M.J., Devidas M., Hunger S.P., Bowman W.P., Carroll A.J., Carroll W.L., et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood* 2008; 111 (12): 5477–85.
- Berry D.A., Zhou S., Higley H., Mukundan L., Fu S., Reaman G.H., et al. Association of Minimal Residual Disease With Clinical Outcome in Pediatric and Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: A Meta-analysis. *JAMA Oncol* 2017; 3 (7): e170580.
- Conter V., Bartram C.R., Valsecchi M.G., Schrauder A., Panzer-Grumayer R., Moricke A., et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood* 2010; 115 (16): 3206–14.
- Vora A., Goulden N., Mitchell C., Hancock J., Hough R., Rowntree C., et al. Augmented post-remission therapy for a minimal residual disease-defined high-risk subgroup of children and young people with clinical standard-risk and intermediate-risk acute lymphoblastic leukaemia (UKALL 2003): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2014; 15 (8): 809–18.
- Borowitz M.J., Wood B.L., Devidas M., Loh M.L., Raetz E.A., Salzer W.L., et al. Prognostic significance of minimal residual disease in high risk B-ALL: a report from Children's Oncology Group study AALL0232. *Blood* 2015; 126 (8): 964–71.
- Attarbaschi A., Mann G., Zimmermann M., Bader P., Barisone E., Basso G., et al. Randomized post-induction and delayed intensification therapy in high-risk pediatric acute lymphoblastic leukemia: long-term results of the international AIEOP-BFM ALL 2000 trial. *Leukemia* 2020; 34 (6): 1694–700.
- Queudeville M., Ebinger M. Blinatumomab in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia-From Salvage to First Line Therapy (A Systematic Review). *J Clin Med* 2021; 10 (12): 2544.
- Viardot A., Locatelli F., Stieglmaier J., Zaman F., Jabbour E. Concepts in immuno-oncology: tackling B cell malignancies with CD19-directed bispecific T cell engager therapies. *Ann Hematol* 2020; 99 (10): 2215–29.
- Topp M.S., Kufer P., Gokbuget N., Goebeler M., Klingler M., Neumann S., et al. Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *J Clin Oncol* 2011; 29 (18): 2493–8.
- von Stackelberg A., Locatelli F., Zugmaier G., Handgretinger R., Trippett T.M., Rizzari C., et al. Phase I/Phase II Study of Blinatumomab in Pediatric Patients With Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* 2016; 34 (36): 4381–9.
- Locatelli F., Zugmaier G., Rizzari C., Morris J.D., Gruhn B., Klingebiel T., et al. Effect of Blinatumomab vs Chemotherapy on Event-Free Survival Among Children With High-risk First-Relapse B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2021; 325 (9): 843–54.
- Brown P.A., Ji L., Xu X., Devidas M., Hogan L.E., Borowitz M.J., et al. Effect of Postremission Therapy Consolidation With Blinatumomab vs Chemotherapy on Disease-Free

- Survival in Children, Adolescents, and Young Adults With First Relapse of B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2021; 325 (9): 833–42.
18. Popov A., Fominikh V., Mikhailova E., Shelikhova L., Tsaar G., Abugova Y., et al. Blinatumomab following haematopoietic stem cell transplantation – a novel approach for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia in infants. *Br J Haematol* 2021; 194 (1): 174–8.
 19. van der Sluis I.M., de Lorenzo P., Kotecha R.S., Attarbaschi A., Escherich G., Nysom K., et al. Blinatumomab Added to Chemotherapy in Infant Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 2023; 388 (17): 1572–81.
 20. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Дёмина И.А., Михайлова Е.В., Семченкова А.А. и др. Диагностическое иммунофенотипирование острых лейкозов. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2023; 22 (1): 165–77. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-165-177 [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Movchan L.V., Demina I.A., Mikhailova E.V., Semchenkova A.A., et al. Flow cytometry in acute leukemia diagnostics. Guidelines of Russian-Belarusian multicenter group for pediatric leukemia studies. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (1): 165–77. (In Russ.)].
 21. Попов А.М., Белевцев М.В., Боякова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Е.В., Фадеева М.И. и др. Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы. *Онкогематология* 2016; 11 (4): 64–73. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-4-64-73 [Popov A.M., Belevtsev M.V., Boyakova E.V., Verzhbitskaya T.Yu., Movchan L.V., Fadeeva M.S., et al. Standardization of flow cytometric minimal residual disease monitoring in children with b-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. Russia-Belarus multicenter group experience. *Oncohematology* 2016; 11 (4): 64–73. (In Russ.)].
 22. Попов А.М., Михайлова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Пермикин Ж.В., Шман Т.В. и др. Определение минимальной остаточной болезни при В-линейном остром лимфобластном лейкозе методом проточной цитометрии. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2023; 22 (3): 207–17. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-199-209 [Popov A.M., Mikhailova E.V., Verzhbitskaya T.Yu., Movchan L.V., Permikin Zh.V., Shman T.V., et al. Minimal residual disease monitoring in B-lineage acute lymphoblastic leukemia using flow cytometry. Guidelines of the Russian-Belarusian multicenter group for pediatric acute leukemia studies. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (3): 207–17. (In Russ.)].
 23. Цаур Г.А., Ольшанская Ю.В., Обухова Т.Н., Судариков А.Б., Лазарева О.В., Гиндина Т.Л. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая диагностика онкогематологических заболеваний: позиция Организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии. *Гематология и трансфузиология* 2023; 68 (1): 129–43. DOI: 10.35754/0234-5730-2023-68-1-129-143 [Tsaar G.A., Olshanskaya Yu.V., Obukhova T.N., Sudarikov A.B., Lazareva O.V., Gindina T.L. Cytogenetic and molecular genetic diagnostics in oncohematological disorders: a position paper of the Organization of Molecular Geneticists in Oncology and Oncohematology. *Russian journal of hematology and transfusiology* 2023; 68 (1): 129–43. (In Russ.)].
 24. Супрун Р.Н., Румянцева Ю.В., Быданов О.И., Жарикова Л.И., Лагойко С.Н., Лебедев В.В. и др. Острый лимфобластный лейкоз у детей с синдромом Дауна: сравнительный анализ результатов лечения по протоколам ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015. *Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО)* 2022; 9 (3): 12–31. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-14-26 [Suprun R.N., Roumiantseva Yu.V., Bydanov O.I., Zharikova L.I., Lagoiko S.N., Lebedev V.V., et al. Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome: “Moscow-Berlin” experience. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2021; 20 (1): 14–26. (In Russ.)].
 25. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. One-point flow cytometric MRD measurement to identify children with excellent outcome after intermediate-risk BCP-ALL: results of the ALL-MB 2008 study. *J Cancer Res Clin Oncol* 2023; 149 (8): 4629–37.
 26. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. A single flow cytometric MRD measurement in children with B-lineage acute lymphocytic leukemia and hyperleukocytosis redefines the requirements of high-risk treatment: Results of the study ALL-MB 2008. *Leuk Res* 2022; 123: 106982.
 27. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. A simple algorithm with one flow cytometric MRD measurement identifies more than 40% of children with ALL who can be cured with low-intensity therapy. The ALL-MB 2008 trial results. *Leukemia* 2022; 36 (5): 1382–5.
 28. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. A simple procedure to identify children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia who can be successfully treated with low or moderate intensity: Sequential versus single-point minimal residual disease measurement. *Pediatr Blood Cancer* 2023; 70 (6): e30295.
 29. Popov A., Henze G., Roumiantseva Y., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. Low-intensity therapy cures over 40 % of children with rapid Flow-MRD responding ALL: the ALL-MB 2008 trial results. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2022; 21 (2): 95–104.
 30. Михайлова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Румянцева Ю.В., Илларионова О.И., Семченкова А.А., Фечина Л.Г. и др. Влияние режима приема дексаметазона на выявление нормальных В-клеточных предшественников в костном мозге у детей с острым лимфобластным лейкозом на момент окончания индукционной терапии. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2020; 19 (1): 53–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-1-53-57 [Mikhailova E., Verzhbitskaya T., Roumiantseva J., Illarionova O., Semchenkova A., Fechina L., et al. The influence of a dosage regimen of dexamethasone on detection of normal B-cell precursors in the bone marrow of children with BCP-ALL at the end of induction therapy. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2020; 19 (1): 53–7. (In Russ.)].
 31. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Verzhbitskaya T., Boyakova E., et al. Flow cytometric MRD at the end of consolidation in childhood B-lineage acute lymphoblastic

- leukemia has significant prognostic value but limited clinical implications: Results of study ALL-MB 2008. *Leuk Res* 2023; 125: 106998.
32. Mikhailova E., Illarionova O., Komkov A., Zerkalenkova E., Mamedov I., Shelikhova L., et al. Reliable Flow-Cytometric Approach for Minimal Residual Disease Monitoring in Patients with B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia after CD19-Targeted Therapy. *Cancers (Basel)* 2022; 14 (21): 5445.
 33. Михайлова Е.В., Илларионова О.И., Масчан М.А., Новичкова Г.А., Карачунский А.И., Попов А.М. Рекомендации по определению минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии при остром В-лимфобластном лейкозе в условиях применения CD19-направленной терапии. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2023; 22 (2): 175–84. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-2-175-184 [Mikhailova E.V., Illarionova O.I., Maschan M.A., Novichkova G.A., Karachunskiy A.I., Popov A.M. Guidelines for the flow cytometric minimal residual disease monitoring in B-lineage acute lymphoblastic leukemia after CD19-directed immunotherapy. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (2): 175–84. (In Russ.)].
 34. Mikhailova E., Gluhanyuk E., Illarionova O., Zerkalenkova E., Kashpor S., Miakova N., et al. Immunophenotypic changes of leukemic blasts in children with relapsed/refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia, who have been treated with Blinatumomab. *Haematologica* 2021; 106 (7): 2009–12.
 35. Mejstrikova E., Hrusak O., Borowitz M.J., Whitlock J.A., Brethon B., Trippett T.M., et al. CD19-negative relapse of pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia following blinatumomab treatment. *Blood Cancer J* 2017; 7 (12): 659.
 36. Libert D., Yuan C.M., Masih K.E., Galera P., Salem D., Shalabi H., et al. Serial evaluation of CD19 surface expression in pediatric B-cell malignancies following CD19-targeted therapy. *Leukemia* 2020; 34 (11): 3064–9.
 37. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53 (282): 457–81.
 38. Pokhrel A., Dyba T., Hakulinen T. A Greenwood formula for standard error of the age-standardised relative survival ratio. *Eur J Cancer* 2008; 44 (3): 441–7.
 39. Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep* 1966; 50 (3): 163–70.
 40. Prentice R.L., Kalbfleisch J.D., Peterson A.V. Jr., Flournoy N., Farewell V.T., Breslow N.E. The analysis of failure times in the presence of competing risks. *Biometrics* 1978; 34 (4): 541–54.
 41. Gray R.J. A Class of K-Sample Tests for Comparing the Cumulative Incidence of a Competing Risk. *Ann Stat* 1988; 16 (3): 1141–54.
 42. Conter V., Valsecchi M.G., Parasole R., Putti M.C., Locatelli F., Barisone E., et al. Childhood high-risk acute lymphoblastic leukemia in first remission: results after chemotherapy or transplant from the AIEOP ALL 2000 study. *Blood* 2014; 123 (10): 1470–8.
 43. Slamova L., Starkova J., Fronkova E., Zaliova M., Reznickova L., van Delft F.W., et al. CD2-positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with an early switch to the monocytic lineage. *Leukemia* 2014; 28 (3): 609–20.
 44. Novakova M., Zaliova M., Fiser K., Vakraňmanova B., Slamova L., Musilova A., et al. DUX4r, ZNF384r and PAX5-P80R mutated B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia frequently undergo monocytic switch. *Haematologica* 2021; 106 (8): 2066–75.
 45. Buldini B., Varotto E., Maurer-Granofszky M., Gaipa G., Schumich A., Bruggemann M., et al. CD371⁺ pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia: propensity to lineage switch and slow early response to treatment. *Blood* 2024.
 46. Topp M.S., Gokbuget N., Zugmaier G., Klappers P., Stelljes M., Neumann S., et al. Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T cell-engager blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2014; 32 (36): 4134–40.
 47. Locatelli F., Zugmaier G., Rizzari C., Morris J.D., Gruhn B., Klingebiel T., et al. Improved survival and MRD remission with blinatumomab vs. chemotherapy in children with first high-risk relapse B-ALL. *Leukemia* 2023; 37 (1): 222–5.
 48. Locatelli F., Maschan A., Boissel N., Strocchio L., Alam N., Pezzani I., et al. Pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia treated with blinatumomab in a real-world setting: Results from the NEUF study. *Pediatr Blood Cancer* 2022; 69 (4): e29562.
 49. Oudot C., Auclerc M.F., Levy V., Porcher R., Piguet C., Perel Y., et al. Prognostic factors for leukemic induction failure in children with acute lymphoblastic leukemia and outcome after salvage therapy: the FRALLE 93 study. *J Clin Oncol* 2008; 26 (9): 1496–503.
 50. Schrappe M., Hunger S.P., Pui C.H., Saha V., Gaynon P.S., Baruchel A., et al. Outcomes after induction failure in childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366 (15): 1371–81.
 51. Silverman L.B., Gelber R.D., Young M.L., Dalton V.K., Barr R.D., Sallan S.E. Induction failure in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Cancer* 1999; 85 (6): 1395–404.
 52. Попов А.М., Цаур Г.А., Румянцева Ю.В., Быданов О.И., Вержбитская Т.Ю., Мовчан Л.В. и др. Цитометрическое и цитоморфологическое определение достижения ремиссии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2023; 22 (4): 79–89. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-79-89 [Popov A.M., Tsaur G.A., Rumiantseva Yu.V., Bydanov O.I., Verzhbitskaya T.Yu., Movchan L.V., et al. Flow cytometric and cytomorphological definition of remission achievement in children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (4): 79–89. (In Russ.)].
 53. Rau R.E., Dai Y., Devidas M., Rabin K.R., Zweidler-McKay P., Angiolillo A., et al. Prognostic impact of minimal residual disease at the end of consolidation in NCI standard-risk B-lymphoblastic leukemia: A report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer* 2021; 68 (4): e28929.
 54. Popov A., Henze G., Rourmiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. A simple procedure to identify children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia who can be successfully treated with low or moderate intensity: Sequential versus single-point minimal residual disease measurement. *Pediatr Blood Cancer* 2023: e30295.
 55. Hodder A., Mishra A.K., Enshaei A., Baird S., Elbeshlawi I., Bonney D., et al. Blinatumomab for First-Line Treatment of Children and Young Persons With B-ALL. *J Clin Oncol* 2023; JC02301392.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-73-85

Цитометрическое и цитоморфологическое определение достижения ремиссии у детей с острым миелоидным лейкозом

Е.В. Михайлова, А.Н. Дагестани, С.А. Кашпор, С.А. Плясунова, Т.В. Коныхова, М.Э. Дубровина, К.А. Воронин, И.И. Калинина, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская, А.В. Попа, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова, А.М. Попов

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

Достижение клинко-гематологической ремиссии по окончании индукционной терапии является важным показателем ответа на проводимое лечение у детей с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ). Кроме «классической» цитоморфологической оценки количества бластов в костном мозге (КМ) в последние годы в рутинную практику широко внедряется цитометрическое определение минимальной остаточной болезни (МОБ). Целью исследования являлось сравнение результатов определения МОБ методом многоцветной проточной цитометрии с результатами цитоморфологии (ЦМ) при оценке достижения ремиссии по окончании индукционной терапии у детей с ОМЛ. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В работе проанализированы образцы КМ 402 детей с ОМЛ, получавших терапию по протоколу AML-MRD-2018 и проходивших мониторинговое иммунофенотипирование (ИФТ) и исследование КМ методом ЦМ. Подсчет миелограммы производился на 500 ядросодержащих клеток в препарате КМ. Определение МОБ производилось методом 10-цветной проточной цитометрии. Пороговым уровнем для стандартизованного определения МОБ-позитивности была установлена величина в 0,1%. В качестве критерия достижения ремиссии был установлен порог в 5% бластных клеток. Общая сходимость результатов при оценке достижения ремиссии составила 83,3%: у 335 из 402 пациентов ремиссия или ее отсутствие были определены одновременно обоими методами. Среди расходящихся 67 образцов половину составили пациенты с вариантами ОМЛ с выраженным моноцитарным компонентом: 14 (20,9%) с ОМЛ М4, 20 (29,9%) с ОМЛ М5. Среди ФАБ-вариантов ОМЛ наилучшая сходимость результатов исследования КМ методами ИФТ и ЦМ наблюдалась для ОМЛ М1 (91,7%), наихудшая – для ОМЛ М7 (72,7%). Недостижение ремиссии по данным ЦМ никак не влияло на прогноз заболевания у пациентов, достигших ремиссии по данным ИФТ. Но и для ИФТ гораздо более существенно на прогноз заболевания влияло достижение МОБ-негативности (< 0,1%) даже уже на этом, относительно раннем этапе терапии. Более того, рецидивы у МОБ-позитивных пациентов случались значительно чаще, чем у детей, не достигших ремиссии по окончании индукционной терапии (МОБ ≥ 5%), причем эти различия были наиболее существенными в группе промежуточного риска. Причиной такой разницы в прогнозе заболевания является то, что не вышедшие в ремиссию пациенты получали более интенсивную химиотерапию (блок FLAI вместо HAM), а дети из группы промежуточного риска еще и рестратифицировались в группу высокого риска, что предусматривало проведение трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Исследование КМ методами ИФТ и ЦМ на момент окончания индукции у детей с ОМЛ обладает достаточно высоким уровнем сопоставимости результатов оценки достижения ремиссии (83,3%). Определение ремиссии методом ЦМ слабо влияет на прогноз заболевания, однако и для ИФТ относительно стандартный порог в 5% опухолевых клеток представляется недостаточным. Можно предположить, что изменение терапии необходимо и пациентам с сохранением МОБ ≥ 0,1% на этом этапе лечения.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, ремиссия, цитоморфология, проточная цитометрия, минимальная остаточная болезнь

Михайлова Е.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 73–85. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-73-85

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 21.02.2024
Принята к печати 12.03.2024



EDN: HDMRAJ

Контактная информация:

Михайлова Екатерина Валерьевна,
врач клинической лабораторной
диагностики лаборатории
иммунофенотипирования гемобластозов
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: katmikhailova1805@gmail.com

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 21.02.2024

Accepted 12.03.2024

Flow cytometric and cytomorphological definition of remission achievement in children with acute myeloid leukemia

E.V. Mikhailova, A.N. Dagestani, S.A. Kashpor, S.A. Plyasunova, T.V. Konyukhova, M.E. Dubrovina, K.A. Voronin, I.I. Kalinina, E.A. Zerkalenkova, Yu.V. Olshanskaya, A.V. Popa, A.A. Maschan, G.A. Novichkova, A.M. Popov

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

Correspondence:

Ekaterina V. Mikhailova,
MD in Clinical Laboratory Medicine, Leukemia
Immunophenotyping Laboratory of the Dmitry
Rogachev National Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology of Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: katmikhailova1805@gmail.com

The achievement of clinical and hematological remission at the end of induction therapy is one of the key treatment response parameters in pediatric acute myeloid leukemia (AML). Besides conventional cytomorphological evaluation of bone marrow (BM) blast count, minimal residual disease (MRD) measurement has been widely applied in routine clinical practice in recent years. The aim of the study was to compare the results of flow cytometric MRD evaluation with the results of cytomorphological BM investigation when assessing the achievement of remission at the end of induction in children with AML. 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. We analyzed BM samples obtained from 402 children with AML, who had been treated according to the AML-MRD-2018 protocol and undergone simultaneous cytometric and cytomorphological BM investigation at the end of induction. A myelogram count was performed on 500 nucleated cells per BM smear. MRD was measured by 10-color flow cytometry with the 0.1% cut-off for reliable MRD-positivity. The threshold of 5% blasts was used as the criterion of complete remission (CR). Overall concordance of the two methods was 83.3% for the CR status confirmation: in 335 out of 402 patients, the presence or absence of CR was stated using both techniques. Half of the 67 discordant samples were obtained from patients with a significant monocytic component of the leukemic population: 14 (20.9%) with AML M4 and 20 (29.9%) with AML M5. Among all FAB subtypes, the highest concordance rate was noted in patients with M1 variant (91.7%), while the worst comparability – in children with megakarioblastic leukemia (M7 type, 72.7%). Failure to achieve CR by cytomorphology did not influence the outcome of the patients who achieved CR as confirmed by immunophenotyping. At the same time, for flow cytometric BM investigation, achieving MRD negativity (< 0.1%) was the most significant favorable outcome predictor even at this rather early stage. Moreover, relapse incidence in children who were in CR but MRD positive ($\geq 0.1\%$) was higher than in patients who did not achieve CR at the end of induction according to flow cytometry (MRD $\geq 5\%$), especially in the intermediate-risk group. This difference can be explained by more intensive chemotherapy (FLAI instead of HAM cycle) given to patients who did not achieve CR at the end of induction, and patients in the intermediate-risk group were additionally re-stratified to a high-risk group with subsequent hematopoietic stem cell transplantation. Flow cytometric and cytomorphological BM examination for the CR status confirmation at the end of induction in children with AML demonstrated a relatively high concordance rate (83.3%). CR achievement by cytomorphology does not influence final outcome, although for the flow cytometry conventional threshold of 5% also seems inadequate. We can assume that the modification of therapy is also required for patients with MRD $\geq 0.1\%$ at this stage of treatment.

Key words: acute myeloid leukemia, remission, cytomorphology, flow cytometry, minimal residual disease

Mikhailova E.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 73–85.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-73-85

Терапия острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) была и остается трудной задачей в мировой онкогематологической практике [1]. За последние 2 десятилетия результаты лечения ОМЛ у детей значимо улучшились, однако произошло это не в связи с появлением новых терапевтических подходов, а благодаря успехам сопроводительной терапии, приведшим к снижению риска токсической, главным образом инфекционной, летальности [1]. Полная ремиссия (ПР) в зависимости от интенсивности индукционной химиотерапии и точки оценки достижения ремиссии в настоящее время достигается у 80–90% пациентов [1, 2], тогда как показатели бессобытийной (БСВ) и общей (ОВ) выживаемости составляют около 50% и 70% соответственно из-за сохраняющейся высокой частоты развития рецидивов [1, 3, 4]. В определение ПР входит исчезновение всех клинических субстратов лейкемии (органомегалия, лимфаденопатия, очаги экстрамедуллярного поражения и т.д.), снижение содержания бластных клеток менее 5% в клеточном костном мозге (КМ), обнаруживаемых при исследовании аспирата, и восстановление [суб]нормальных количественных показателей эритро-, миело- и мегакариопоэза: гемоглобина не менее 90–100 г/л, нейтрофилов не менее $1,0 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов не менее $100 \times 10^9/\text{л}$, [3, 5]. При этом, будучи обязательным условием достижения дальнейшего выздоровления, статус морфологической ПР не является достаточным, поскольку вероятность реци-

дива у пациентов, достигших ПР, составляет 20–90% в зависимости от цито- и молекулярно-генетического варианта ОМЛ и выполненной терапии. Более того, корреляция между достижением ПР и персистенцией субмикроскопического (т. е. ниже морфологического «порога видимости») лейкоэмического поражения (минимальная остаточная болезнь, МОБ), выявляемого молекулярно-генетическими методами или с помощью проточной цитометрии, не является сильной, и именно определение МОБ на сегодняшний день – наиболее чувствительный и специфичный инструмент для прогнозирования риска рецидива ОМЛ [2, 6, 7].

Персистенция МОБ после одного или нескольких курсов полихимиотерапии при лечении ОМЛ, по данным множества клинических исследований, является важным прогностическим фактором в отношении БСВ и, соответственно, ОВ [2, 8, 9]. В 2018 г. в России инициировано проспективное мультицентровое исследование AML-MRD-2018 (NCT03846362), одной из задач которого было определение клинического значения показателей МОБ, определяемой методом многоцветной проточной цитометрии на всех этапах лечения, в том числе и после проведения индукционной терапии, а также анализ сходимости результатов определения МОБ и исследования методом цитоморфологии (ЦМ), которое является, хотя и с существенными оговорками, «золотым стандартом» оценки статуса ремиссии [1]. Констатация морфологической ремиссии нередко затруднена

из-за морфологического сходства нормальных ранних гемопоэтических предшественников и лейкоэмических бластов [10], при этом выявление МОБ, основанное на анализе антигенного «портрета» лейкоэмических клеток, обладает большей чувствительностью и специфичностью и позволяет распознавать опухолевые клетки, присутствующие на уровнях значительно ниже тех, которые обнаруживаются морфологически [6, 7]. В связи с этим клиническая значимость морфологической оценки ответа на терапию в эпоху МОБ должна быть подвергнута критическому анализу [5].

Таким образом, сопоставление результатов исследования методами цитометрии и ЦМ по отношению к оценке достижения ремиссии по окончании индукционной терапии у детей с ОМЛ является важной и актуальной задачей ввиду крайней клинической важности оценки раннего ответа на терапию, который помогает в прогнозе риска развития рецидива и применяется для финальной стратификации пациентов и определения дальнейшей тактики лечения.

Цель данного исследования – сравнение результатов определения МОБ методом многоцветной проточной цитометрии с результатами ЦМ при оценке достижения ремиссии по окончании индукционной терапии у детей с ОМЛ. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования были проанализированы образцы КМ 402 детей с ОМЛ (медиана возраста 7,5 лет, разброс 15 дней – 18 лет), проходивших диагностическое и мониторинговое иммунофенотипирование (ИФТ) параллельно с исследованием методом ЦМ в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России с апреля 2018 г. по сентябрь 2023 г. в рамках протокола AML-MRD-2018. Все пациенты на момент исследования получали или завершили терапию по протоколу.

Инициальные характеристики пациентов представлены в таблице 1.

Исследование методами ЦМ и ИФТ выполнялось для установления диагноза до начала лечения (день 0). Для констатации достижения или недостижения ремиссии в период с 21-го по 35-й день после окончания индукционной химиотерапии цитарабином, митоксантроном и этопозидом (АМЕ) при восстановлении гранулоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоцитов $> 100 \times 10^9/\text{л}$ производилась пункция КМ для дальнейшего определения МОБ и исследования методом ЦМ.

Для исследования методом ЦМ мазки КМ окрашивались по методу Романовского–Гимзы. Подсчет

миелограммы производился на 500 ядросодержащих клеток в препарате КМ. В качестве критерия достижения ремиссии был установлен классический порог в 5% бластных клеток.

Определение МОБ производилось методом многоцветной проточной цитометрии по технологии группы FlowCluster [11]. Для мониторингового ИФТ по определению МОБ окраска образцов КМ производилась с помощью сухих реагентов Duraclone (Beckman Coulter, США). Пробы содержали антитела к поверхностным антигенам клеток, меченные флуорохромами (FITC, PE, ECD, PC5.5, PC7, APC, APC-A700,

Таблица 1
Краткая характеристика пациентов, включенных в исследование

Table 1
Brief characteristics of the patients included in the study

Параметр Parameter	Значение Value
Общее число пациентов, <i>n</i> Total number of patients, <i>n</i>	402
Пол: мужской/женский, <i>n</i> (%) Sex: male/female, <i>n</i> (%)	217/185 (54/46)
Возраст, медиана (разброс), годы Median age (range), years	7,5 (0,04–17,89)
Вариант ОМЛ по ФАБ-классификации, <i>n</i> (%): AML type according to the FAB classification, <i>n</i> (%):	
M0	2 (0,5)
M1	36 (9,0)
M2	94 (23,4)
M4	81 (20,1)
M5	101 (25,1)
M6	8 (2,0)
M7	33 (8,2)
Mx	35 (8,7)
нет данных no data	12 (3,0)
Хромосомные aberrации, <i>n</i> (%): Chromosomal aberrations <i>n</i> (%):	322/385 (83,6)
inv16/t(16;16) – <i>CBFB::MYH11</i>	42 (10,4)
t(8;21)(q22;q22) – <i>RUNX1::RUNX1T1</i>	69 (17,1)
перестройка гена <i>KMT2A</i> <i>KMT2A</i> gene rearrangement	100 (24,9)
перестройка гена <i>NUP98</i> <i>NUP98</i> gene rearrangement	26 (6,5)
inv(16)(p13q24) – <i>CBFA2T3::GLIS2</i>	9 (2,2)
перестройка гена <i>RUNX1</i> <i>RUNX1</i> gene rearrangement	2 (0,5)
t(10;11)(p11-15;q21) – <i>PICALM::MLLT10</i>	6 (1,5)
перестройка локуса <i>H0XA</i> rearrangement of the <i>H0XA</i> locus	4 (1,0)
перестройка гена <i>ETV6</i> <i>ETV6</i> gene rearrangement	3 (0,7)
t(6;9)(p23;q34) – <i>DEK::CAN</i>	5 (1,2)
t(1;22)(p13;q13) – <i>OTT::MAL</i>	1 (0,2)
t(16;21)(p11;q22) – <i>FUS::ERG</i>	1 (0,2)
t(8;16)(p11;p13) – <i>KAT6A::CREBBP</i>	1 (0,2)
перестройка гена <i>EVI1</i> <i>EVI1</i> gene rearrangement	2 (0,5)
моносомия 7/делеция 7q monosomy 7/7q deletion	5 (1,2)
другое other	34 (8,4)
Комплексные перестройки, <i>n</i> (%) Complex rearrangements, <i>n</i> (%)	12 (3,0)
Нет известных цитогенетических аномалий, <i>n</i> (%) No known cytogenetic abnormalities, <i>n</i> (%)	63 (15,7)
Нет данных, <i>n</i> (%) No data, <i>n</i> (%)	17 (4,2)
Группа риска по протоколу ОМЛ-MRD-2018, <i>n</i> (%): Risk group according to the AML-MRD-2018 protocol, <i>n</i> (%):	
стандартный риск standard risk	42 (10,4)
промежуточный риск intermediate risk	176 (43,8)
высокий риск high risk	184 (45,8)

Note. AML – acute myeloid leukemia.

APC-A750, PB, KrO). Панель для анализа состояла из 2 комбинаций антител: для определения миелоидных клеток на ранних стадиях дифференцировки и для выявления клеток с инициально диагностированным лейкоз-ассоциированным иммунофенотипом [11, 12]:

- комбинация 1: CD38-FITC, CD371-PE, CD34-ECD, CD117-PC5.5, CD33-PC7, CD99-APC, CD123-APC-A700, CD45RA-APC-A750, HLA-DR-PB, CD45-KrO;

- комбинация 2: CD15-FITC, CD34-ECD, CD117-PC5.5, CD33-PC7, CD14-APC-A700, CD11b-APC-A750, HLA-DR-PB, CD45-KrO; каналы PE и APC служат для добавления дополнительных маркеров опухолевых клеток, не входящих в панель [11].

Образец считался МОБ-позитивным при наличии кластера не менее чем из 50 опухолевых клеток, соответствующих минимум 2 из 3 критериев: отличие от нормальных клеток-предшественников миелопоэза; наличие лейкоз-ассоциированного иммунофенотипа, обнаруженного при диагностике; наличие незрелого иммунофенотипа [11]. Количество опухолевых клеток выражалось в процентном соотношении их числа к числу ядродержащих клеток. В качестве критерия достижения ремиссии был установлен порог в 5% опухолевых клеток. Пороговым уровнем для «уверенного» стандартизованного определения МОБ-позитивности была установлена относительно стандартная величина в 0,1%.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение XLSTAT v2020.4.1. Кривые БСВ, ОВ и выживаемости без признаков болезни (ВББ) были построены по методу Каплана-Майера [13]. БСВ определялась как время от диагностики ОМЛ до первого события (рецидив, смерть вследствие любой причины как первое событие, вторая опухоль) либо последнего контакта с пациентом, если неблагоприятное событие не было зарегистрировано. Для ОВ неблагоприятным событием считалась смерть от любой причины. ВББ рассчитывалась только для пациентов, достигших клинико-гематологической ремиссии, как время от даты достижения ремиссии до неблагоприятного события (аналогично БСВ). Стандартную ошибку рассчитывали по формуле Гринвуда [14]. Для сравнения кривых использовали непараметрический критерий log-rank [15]. Кумулятивную частоту развития рецидива (КЧР) определяли путем оценки конкурирующих рисков согласно методике J. Kalbfleisch, R. Prentice [16], для сравнения кривых использовали критерий Грея [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данные инициального исследования методом ЦМ были доступны у 390 из 402 пациентов, включенных в

исследование. Согласно критериям ФАБ-классификации [18, 19] у 2 (0,5%) пациентов был диагностирован М0-вариант, у 36 (9,2%) – М1, у 94 (24,1%) – М2, у 81 (20,8%) – М4, у 101 (25,9%) – М5, у 8 (2,1%) – М6, у 33 (8,4%) – М7. У 35 (9,0%) пациентов точное определение морфологического варианта ОМЛ оказалось невозможным (таблица 1).

По данным цитогенетического и молекулярно-генетического исследований наиболее частыми соматическими хромосомными aberrациями в клетках ОМЛ являлись перестройки гена *KMT2A* ($n = 100$, 24,9%), транслокация $t(8;21)(q22;q22)/RUNX1::RUNX1T1$ ($n = 69$, 17,1%), $inv16/t(16;16)/CBFB::MYH11$ ($n = 42$, 10,4%) и перестройка гена *NUP98* ($n = 26$, 6,5%). Весь спектр генетических перестроек у пациентов, включенных в исследование, отображен в таблице 1.

При сопоставлении результатов определения МОБ методом ИФТ и данных миелограммы при исследовании КМ после проведения индукционной терапии во всей исследуемой когорте пациентов общая сходимость результатов на предмет достижения ремиссии составила 83,3%: у 335 из 402 пациентов ремиссия или ее отсутствие были определены одновременно обоими методами (таблица 2, рисунок 1).

В 67 (16,7%) случаях достижение ремиссии было констатировано лишь по данным одного из двух методов исследования: 56 (14%) пациентов достигли ремиссии только по данным ИФТ (опухолевых клеток при определении МОБ < 5%, а по данным миелограммы бластоз КМ ≥ 5%), тогда как 11 (2,7%) – только по данным ЦМ (по данным миелограммы бластоз КМ < 5%, а опухолевых клеток при определении МОБ ≥ 5%). Среди всех расходящихся результатов половину от общего числа составили пациенты с вариантами ОМЛ с выраженным моноцитарным компонентом: 14 (20,9%) с ОМЛ М4, 20 (29,9%) с ОМЛ М5. Кроме этого, расхождения продемонстрировали 14 (20,9%) пациентов с ОМЛ М2, 9 (13,4%) – с ОМЛ М7, 3 (4,5%) – с ОМЛ М1, 1 (1,5%) – с ОМЛ М6, а также 6 (8,9%) образцов КМ пациентов с неverified по ФАБ-критериям вариантом ОМЛ (рисунок 2А). Наиболее крупную генетическую группу среди расходящихся образцов составили образцы от пациентов с ОМЛ с перестройкой гена *KMT2A*: 24 (35,8%) из 67 (рисунок 2А). Генетический спектр ОМЛ при дискордантных результатах ИФТ и ЦМ представлен на рисунке 2А.

Распределение по ФАБ-вариантам и генетическим группам ОМЛ у тех пациентов, кто достиг ремиссии только по данным ИФТ ($n = 56$), было подобно таковому для всех пациентов с дискордантными результатами: преобладали ОМЛ М5 ($n = 18$, 32,1%) и ОМЛ М4 ($n = 9$, 16,1%), а также ОМЛ с перестройками гена *KMT2A* ($n = 22$, 39,3%) (рисунок 2Б). У пациентов, достигших ремиссии

Таблица 2

Сопоставление результатов исследования методами ИФТ и ЦМ по отношению к достижению ремиссии в парных образцах КМ внутри ФАБ-вариантов ОМЛ после проведения индукционной терапии

Table 2

Comparison of the results of MFC and CM testing used to assess remission in paired bone marrow samples within FAB-variants of AML after the end of induction therapy

Вариант ОМЛ по ФАБ-классификации AML type according to the FAB classification	Количество образцов Number of samples	ЦМ ≥ 5%, ИФТ ≥ 5% CM ≥ 5%, MFC ≥ 5%	ЦМ < 5%, ИФТ ≥ 5% CM < 5%, MFC ≥ 5%	ЦМ ≥ 5%, ИФТ < 5% CM ≥ 5%, MFC < 5%	ЦМ < 5%, ИФТ < 5% CM < 5%, MFC < 5%	Сходимость, % Comparison, %
ОМЛ М1 AML M1	36	5	0	3	28	91,7
ОМЛ М2 AML M2	94	9	2	12	71	85,1
ОМЛ М4 AML M4	81	6	5	9	61	82,7
ОМЛ М5 AML M5	101	8	2	18	73	80,2
ОМЛ М6 AML M6	8	3	0	1	4	87,5
ОМЛ М7 AML M7	33	5	1	8	19	72,7
Все образцы All samples	402	48	11	56	287	83,3

Рисунок 1

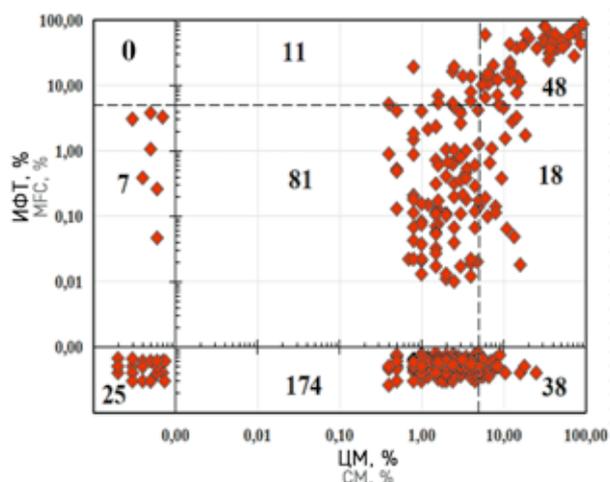
Сопоставление результатов определения МОБ методом ИФТ и данных ЦМ после окончания индукционной терапии по отношению к достижению ремиссии у пациентов с ОМЛ ($n = 402$)

Пунктирными линиями обозначен порог достижения ремиссии (5% опухолевых клеток для исследования методом ИФТ, 5% бластных клеток для исследования методом ЦМ)

Figure 1

Comparison of minimal residual disease (MRD) levels measured by MFC with the results of CM testing after the end of induction therapy for the assessment of remission in patients with AML ($n = 402$)

The dashed lines indicate the threshold for achieving remission (5% tumor cells for MFC, 5% blast cells for CM)



только по данным миелограммы ($n = 11$), преобладал ОМЛ М4-вариант по ФАБ-классификации ($n = 5$, 45,5%), в то время как явно преобладающей генетической аберрации в данной группе обнаружено не было (рисунок 2B).

Среди ФАБ-вариантов ОМЛ в работе наилучшая сходимость результатов исследования КМ методами ИФТ и ЦМ на предмет достижения ремиссии наблюдалась для ОМЛ М1 (91,7%), наихудшая – для ОМЛ М7 (72,7%); сходимость для ОМЛ М2 составила 85,1%, для ОМЛ М4 – 82,7%, для ОМЛ

М5 – 80,2%, для ОМЛ М6 – 87,5% (таблица 2, рисунок 3).

Так как наиболее крупную генетическую группу как в общей когорте больных, так и среди пациентов с расходящимися результатами составили дети с перестройкой гена *KMT2A*, были сопоставлены результаты ИФТ и ЦМ в данной генетической группе ($n = 100$). Сходимость результатов составила 76%, при этом наибольшую часть расходящихся образцов (22 из 24) составляли достигшие ремиссии по данным ИФТ, но имеющие 5% бластов и более по данным миелограммы (рисунок 4). Примечательно, что подавляющее большинство случаев в данной когорте были классифицированы по критериям ФАБ как ОМЛ с выраженным моноцитарным компонентом: 68 (68%) случаев как ОМЛ М5, 13 (13%) – как ОМЛ М4.

Анализ прогностического значения показателей ответа на терапию проводили у 370 пациентов, диагностированных до 31.06.2023 в целях обеспечения адекватного периода наблюдения. Во всей исследуемой группе ($n = 370$) 4-летняя БСВ составила $44,8 \pm 2,9\%$, ОВ – $72,8 \pm 2,8\%$, а КЧР – $36,3 \pm 3,0\%$. Пациенты с МОБ < 5% имели одинаковую вероятность рецидива вне зависимости от того, достигали они ремиссии по данным ЦМ или нет (рисунок 5A): КЧР у детей с бластом $\geq 5\%$ ($n = 54$) составила $39,4 \pm 7,6\%$, а у тех, кто достиг ремиссии по данным обоих методов ($n = 257$), – $35,7 \pm 3,5\%$ ($p = 0,720$). Так как в исследовании AML-MRD 2018 недостижение ремиссии по данным проточной цитометрии (МОБ $\geq 5\%$) автоматически переводило таких пациентов в категорию первично-рефрактерных, что предусматривало обязательную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), адекватно оценить прогностическое

Рисунок 2

Распределение по ФАБ-вариантам ОМЛ (1) и генетическим группам (2): А – всех образцов КМ с расходящимися результатами определения МОБ методом ИФТ и данными ЦМ ($n = 67$); Б – расходящихся образцов КМ с МОБ методом ИФТ $< 5\%$ и количеством бластов по данным ЦМ $\geq 5\%$ ($n = 56$); В – расходящихся образцов КМ с методом ИФТ $\geq 5\%$ и количеством бластов по данным ЦМ $< 5\%$ ($n = 11$)

НК – нормальный кариотип; КП – комплексные перестройки

Figure 2

Distribution by the FAB-variants of AML (1) and genetic groups (2): А – all bone marrow samples with discordant results of MRD monitoring by MFC and data from the CM testing ($n = 67$); Б – discordant bone marrow samples with MRD by MFC $< 5\%$ and blast count by CM $\geq 5\%$ ($n = 56$); В – discordant bone marrow samples with MRD by MFC $\geq 5\%$ and blast count by CM $< 5\%$ ($n = 11$)
NK – normal karyotype; CR – complex rearrangements

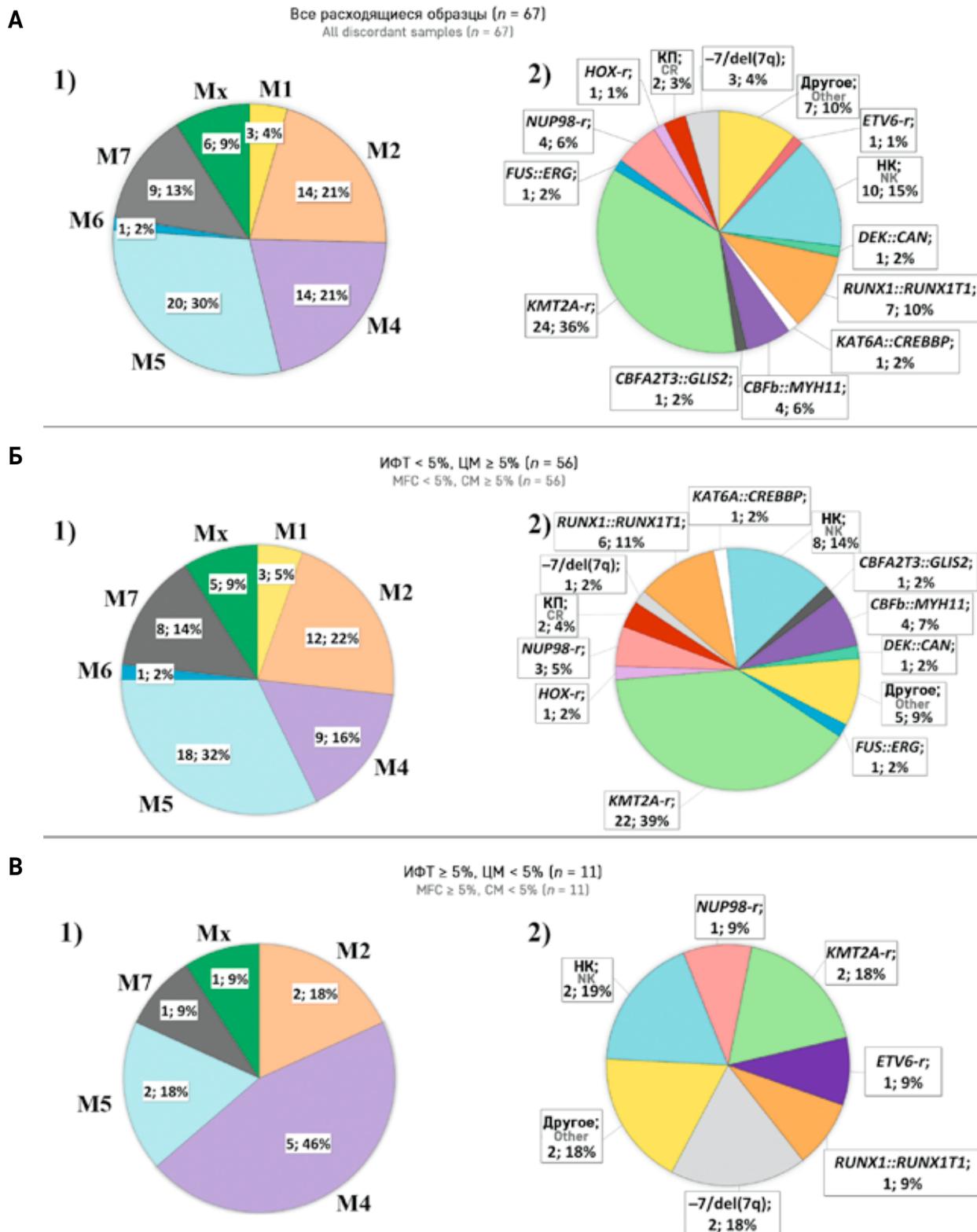


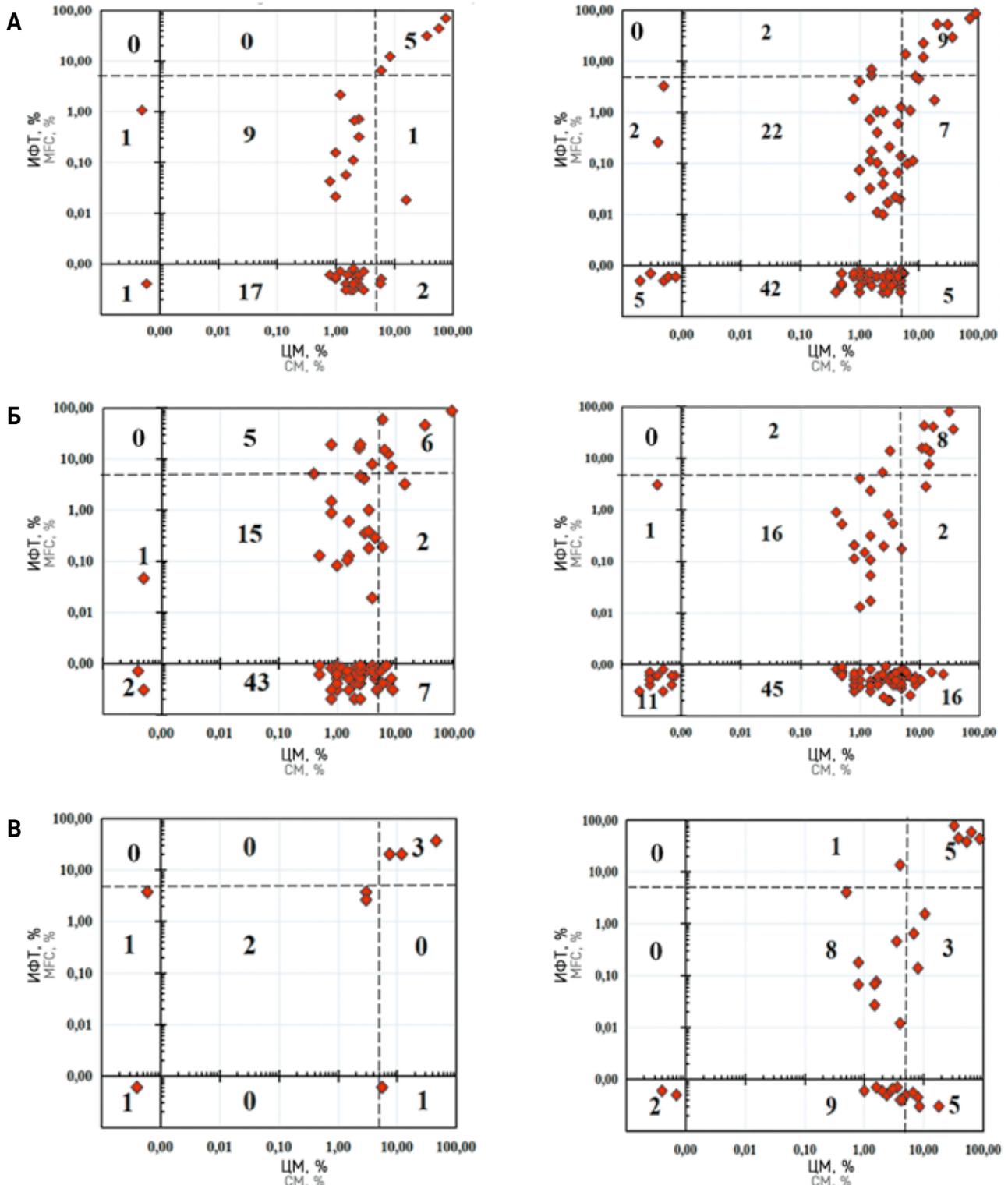
Рисунок 3

Сопоставление результатов определения МОБ методом ИФТ и данных ЦМ после окончания индукционной терапии по отношению к достижению ремиссии у пациентов в зависимости от варианта ОМЛ по ФАБ-классификации А – ОМЛ М1 ($n = 36$); Б – ОМЛ М2 ($n = 94$); В – ОМЛ М4 ($n = 81$); Г – ОМЛ М5 ($n = 101$); Д – ОМЛ М6 ($n = 8$); Е – ОМЛ М7 ($n = 33$). Пунктирными линиями обозначен порог достижения ремиссии (5% опухолевых клеток для ИФТ, 5% бластных клеток для ЦМ)

Figure 3

Comparison of MRD levels measured by MFC with the results of CM testing after the end of induction therapy for the assessment of remission in patients with AML according to the FAB-variant

A – AML M1 ($n = 36$); Б – AML M2 ($n = 94$); В – AML M4 ($n = 81$); Г – AML M5 ($n = 101$); Д – AML M6 ($n = 8$); Е – AML M7 ($n = 33$). The dashed lines indicate the threshold for achieving remission (5% tumor cells for MFC, 5% blast cells for CM)



значение показателей ответа на терапию в данной группе достаточно сложно. Тем не менее и в ней вероятность рецидива не зависела от того, достигнута ли ремиссия по данным ЦМ (рисунки 5Б): КЧР у детей с бластозом $\geq 5\%$ ($n = 36$) составила $34,6 \pm 10,3\%$, а у тех, кто достиг ремиссии только по данным ЦМ ($n = 9$), – $35,2 \pm 16,5\%$ ($p = 0,650$).

Оказалось, что гораздо более существенно на прогноз заболевания влияет достижение МОБ-нега-

Рисунок 4

Сопоставление результатов определения МОБ методом ИФТ и данных ЦМ после окончания индукционной терапии по отношению к достижению ремиссии у пациентов с ОМЛ с перестройкой гена *KMT2A* ($n = 100$). Пунктирными линиями обозначен порог достижения ремиссии (5% опухолевых клеток для ИФТ, 5% бластных клеток для ЦМ)

Figure 4

Comparison of MRD levels measured by MFC with the results of CM testing after the end of induction therapy for the assessment of remission in patients with *KMT2A*-rearranged AML ($n = 100$). The dashed lines indicate the threshold for achieving remission (5% tumor cells for MFC, 5% blast cells for CM)

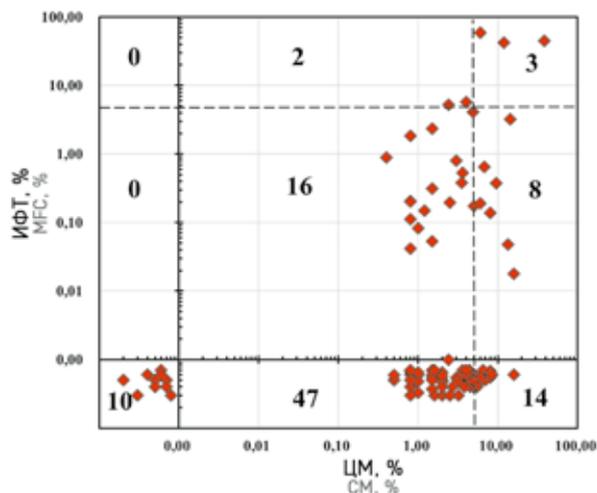
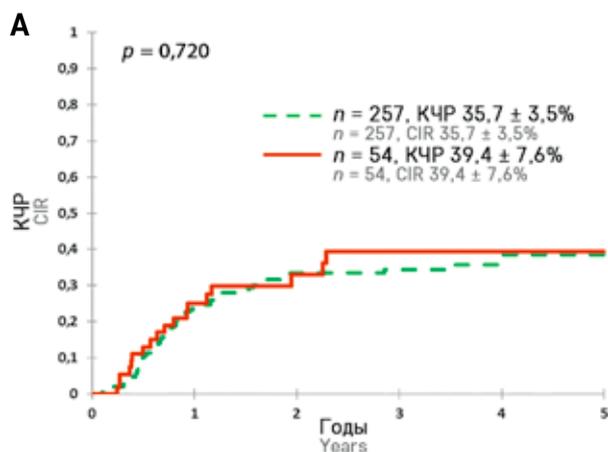


Рисунок 5

КЧР у детей с ОМЛ с бластозом $< 5\%$ (зеленая пунктирная линия) и $\geq 5\%$ (красная сплошная линия) на момент окончания индукции по протоколу AML-MRD 2018. А – пациенты с МОБ $< 5\%$; Б – пациенты с МОБ $\geq 5\%$

Figure 5

Cumulative incidence of relapse (CIR) in children with AML with blast counts $< 5\%$ (green dashed line) and $\geq 5\%$ (red solid line) at the end of induction according to the AML-MRD 2018 protocol. А – patients with MRD $< 5\%$; Б – patients with MRD $\geq 5\%$



тивности ($< 0,1\%$) даже уже на этом, относительно раннем этапе терапии. Пациенты с МОБ $< 0,1\%$ ($n = 244$) имели существенно лучшую КЧР ($30,1 \pm 3,4\%$) по сравнению с теми, кто имел МОБ $\geq 0,1\%$ ($n = 67$; КЧР $59,7 \pm 6,8\%$), но достиг формальной МОБ-ремиссии (МОБ $< 5\%$) ($p < 0,001$) (рисунки 6). Данная тенденция сохранялась и при анализе пациентов в группах промежуточного (рисунки 7А) и высокого (рисунки 7Б) риска, а также среди больных, достигших и не достигших ремиссии по данным ЦМ (рисунки 7В, Г). Более того, пациенты с МОБ $\geq 0,1\%$, но $< 5\%$ (т. е. достигшие ремиссии по данным многоцветной проточной цитофлуориметрии) имели худший прогноз ($n = 67$; ВББ $33,9 \pm 6,7\%$, КЧР $59,7 \pm 6,8\%$) по сравнению с теми, кто имел МОБ $\geq 5\%$ ($n = 45$; ВББ $54,7 \pm 9,3\%$, КЧР $35,0 \pm 9,0\%$; $p = 0,094$ и $p = 0,036$ соответственно) (рисунки 8А). Данная тенденция оказалась крайне выраженной в группе промежуточного риска (рисунки 8Б), но менее значимой в группе высокого риска (рисунки 8В).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенный анализ показал, что подавляющая часть расходящихся результатов (56 (83,6%) из 67) наблюдалась в образцах, в которых ремиссия была достигнута только по данным ИФТ, но в которых обнаруживалось $> 5\%$ бластов по данным миелограммы. При этом следует отметить, что 38 из 58 этих пациентов являлись МОБ-негативными. Данный факт, вероятно, связан с тем, что КМ пациентов с ОМЛ после проведения индукционной терапии часто имеет обедненный клеточный состав, по причине чего активное постиндукционное восстановление кроветворения может приводить к относи-

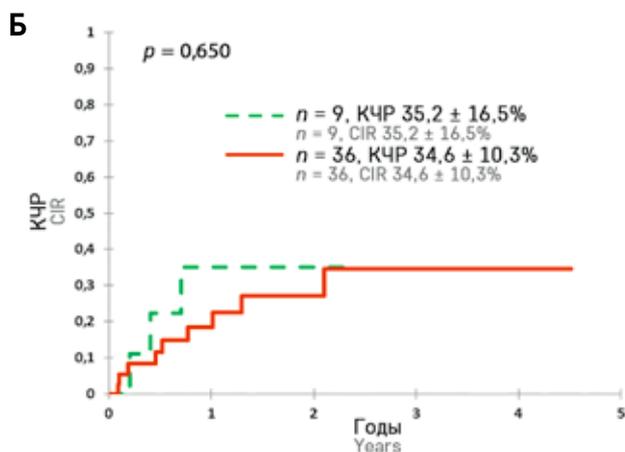


Рисунок 6

КЧР у детей с ОМЛ с МОБ < 5% на момент окончания индукции по протоколу AML-MRD 2018
Зеленой пунктирной линией показана группа МОБ-негативных пациентов (< 0,1%), а красной сплошной линией – группа пациентов с МОБ ≥ 0,1%

Figure 6

CIR in children with AML with MRD < 5% at the end of induction according to the AML-MRD 2018 protocol
The green dashed line indicates the group of MRD negative patients (< 0.1%), and the red solid line indicates the group of patients with MRD ≥ 0.1%

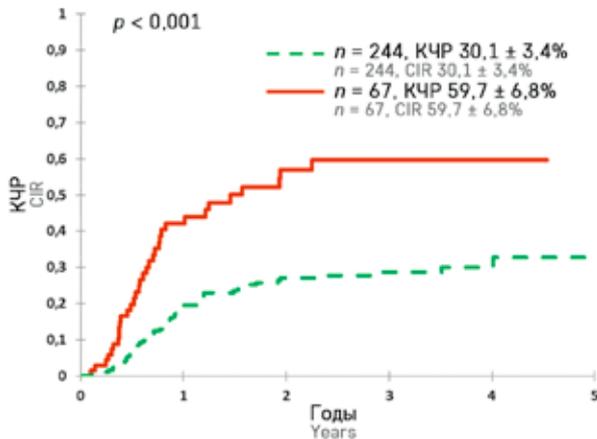
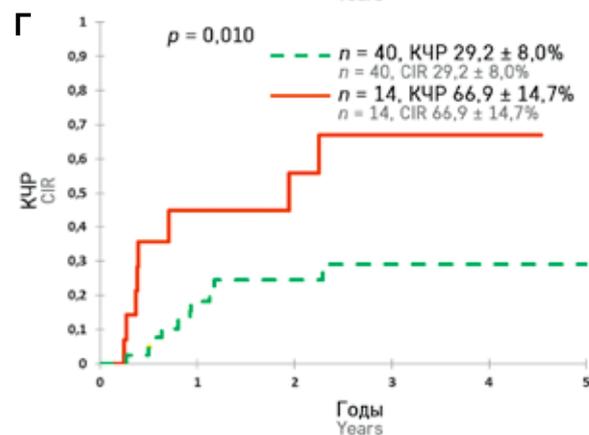
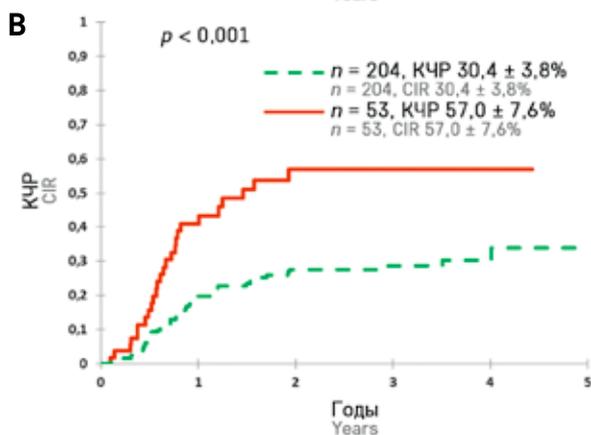
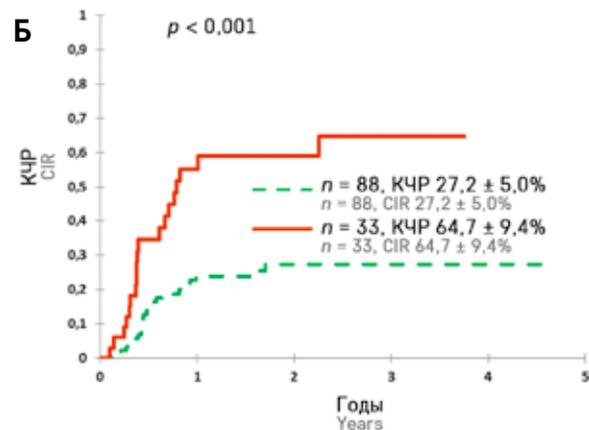
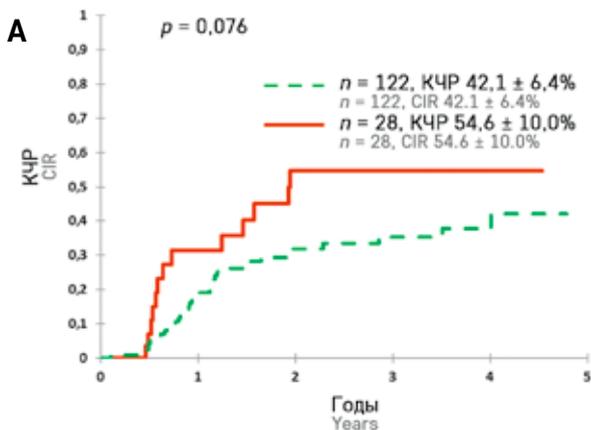


Рисунок 7

КЧР у детей с ОМЛ, достигших ремиссии на момент окончания индукции по протоколу AML-MRD 2018 по данным проточной цитометрии
Зеленой пунктирной линией показана группа МОБ-негативных пациентов (< 0,1%), а красной сплошной линией – группа пациентов с МОБ ≥ 0,1%. А – пациенты группы промежуточного риска; Б – пациенты группы высокого риска; В – пациенты с бластом менее 5%; Г – пациенты с бластом более 5% по данным ЦМ

Figure 7

CIR in children with AML, who achieved remission at the end of induction according to the AML-MRD 2018 protocol as confirmed by MFC
The green dashed line indicates the group of MRD negative patients (< 0.1%), the red solid line indicates the group of patients with MRD ≥ 0.1%. A – intermediate-risk group patients; Б – high-risk group patients; В – patients with blast count < 5%; Г – patients with blast count ≥ 5% by CM



тельному повышению количества бластов за счет появления нормальных гемопоэтических предшественников, которые морфологически далеко не всегда четко отличимы от бластов ОМЛ. Похожая проблема описана в работе M.R. Loken и соавт. [10]. В этом исследовании также были выявлены случаи МОБ-негативных ремиссий «на восстановлении» гемопоэза после индукционной терапии ОМЛ с морфологическими признаками персистенции лейкемии (> 5% бластных клеток) [10]. При этом ОБ у данной когорты пациентов оказалась значительно выше, чем у больных, которые имеют одновременно МОБ-положительный статус и ≥ 5% бластных клеток по данным миелограммы [10], что подтверждает влияние МОБ на исход заболевания вне зависимости от достижения ремиссии по данным исследования методом ЦМ. Авторы также отмечают трудности дифференциации нормальных бластов от опухолевых после индукционной терапии по причине активной регенерации КМ [10]. Похожие данные представлены в исследовании H. Inaba и

соавт., в котором более половины, а именно 90 из 167 образцов, в которых содержание морфологически опознаваемых бластов было $> 5\%$, оказались МОБ-негативны по данным ИФТ [5].

Наличие образцов КМ, где по данным миелограммы наблюдается ремиссия на фоне наличия цитометрической МОБ $\geq 5\%$ (11 (16,4%) из 67)

связано с тем, что отслеживание опухолевых клеток при помощи проточной цитометрии обладает большей чувствительностью и специфичностью в сравнении с исследованием методом ЦМ. В отличие от микроскопического визуального исследования КМ, которое позволяет детектировать прежде всего самый незрелый бластный компонент ОМЛ, проточная цито-

Рисунок 8

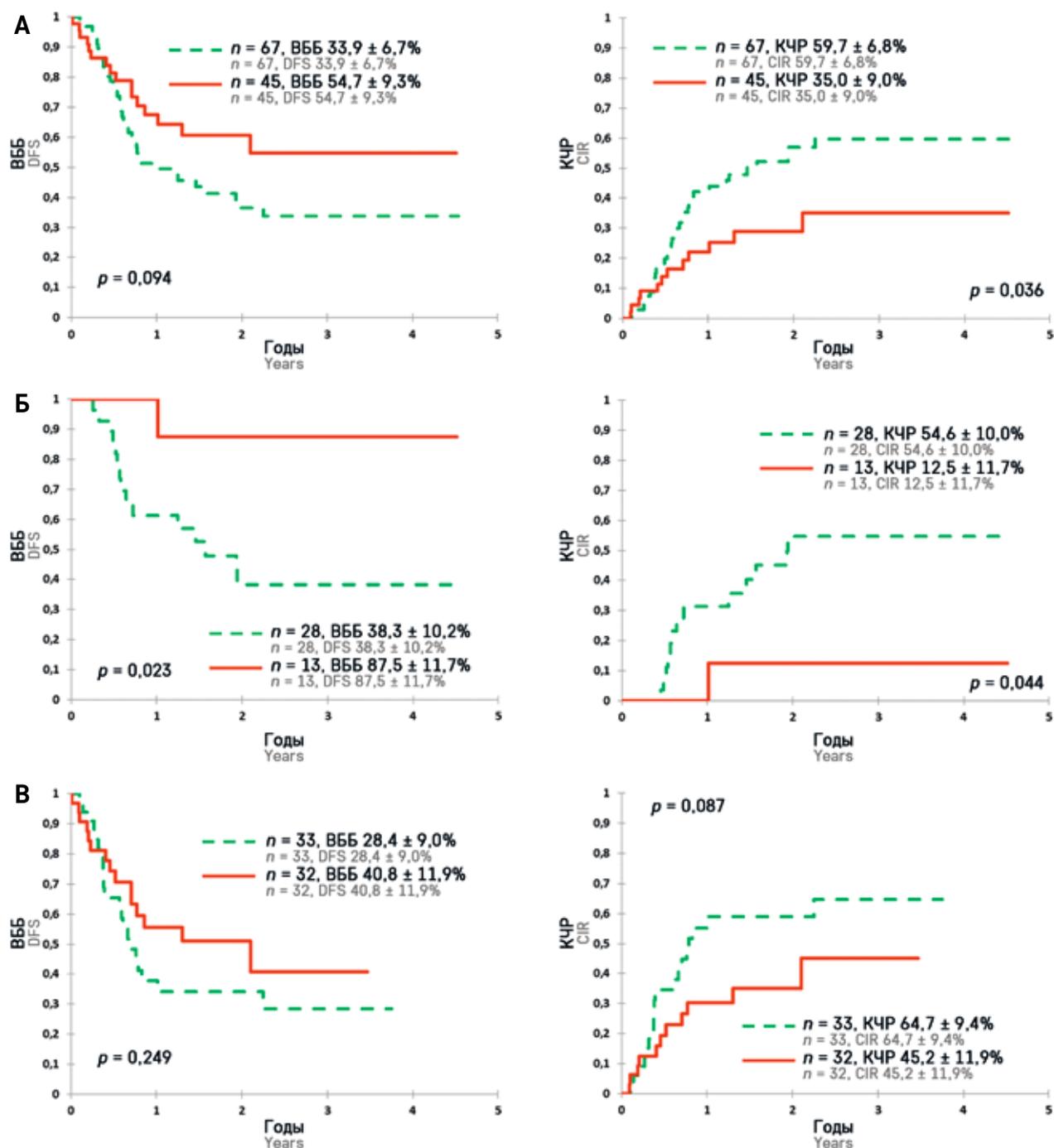
ВББ (верхний ряд) и КЧР (нижний ряд) у детей с ОМЛ, не достигших ремиссии на момент окончания индукции по протоколу AML-MRD 2018 по данным проточной цитометрии (красная сплошная линия), и у пациентов, достигших ремиссии, но с МОБ $\geq 0,1\%$ (зеленая пунктирная линия)

А – все пациенты; Б – пациенты группы промежуточного риска; В – пациенты группы высокого риска

Figure 8

Disease-free survival (DFS, upper row) and CIR (lower row) in children with AML, who did not achieve remission at the end of induction according to the 2018 AML-MRD protocol as measured by MFC (red solid line), and in patients who achieved remission, but with MRD $\geq 0.1\%$ (green dashed line)

A – all patients; Б – intermediate risk group patients; В – high risk group patients



метрия зачастую дает возможность отличить более зрелые клетки опухоли от нормальных созревающих и зрелых миелоидных клеток КМ на основании aberrантного иммунофенотипа [10]. Как и в случае пациентов, не достигших ремиссии по данным миелограммы, наличие постиндукционной МОБ у пациентов, достигших морфологической ремиссии, в опубликованных работах тесно коррелировало с частотой развития рецидива и являлось независимым предиктором исхода [10].

Среди ФАБ-вариантов ОМЛ в настоящем исследовании наибольшую долю расходящихся образцов (30%) составили случаи с М5-вариантом. Этот факт можно во многом объяснить статистически, учитывая, что М5 был самым многочисленным ФАБ-вариантом в данном исследовании (25%), это полностью коррелирует с данными литературы, свидетельствующими о том, что данный вариант является самым распространенным подтипом ОМЛ у детей [20, 21]. При этом следует отметить, что среди исследованных в данной работе пациентов с ОМЛ М5 имелось 20 образцов с расходящимися результатами, среди которых в 18 ремиссия не была достигнута только по данным миелограммы, при этом 16 из них являлись МОБ-негативными. Проблема дискордантности результатов мониторинга КМ при ОМЛ М5 связана с тем, что морфологические и иммунофенотипические характеристики опухолевых клеток при данном ФАБ-варианте могут существенно совпадать с морфологическими и иммунофенотипическими характеристиками нормального моноцитарного компонента КМ [20, 21]. В повседневной лабораторной практике различение опухолевых клеток ОМЛ М5 с нормальными моноцитарными предшественниками или моноцитами при реактивном моноцитозе затруднено из-за их морфологической схожести [21].

Среди ФАБ-вариантов ОМЛ наилучшая сходимость результатов ИФТ и ЦМ наблюдалась для М1. В случае данного варианта ОМЛ единственным или доминирующим субстратом опухоли являются атипичные бластные клетки, обладающие морфологическими чертами бластов, а также чаще всего имеющие иммунофенотипические черты ранних гемопоэтических клеток [22]. В этом случае при детекции остаточных опухолевых клеток с помощью ИФТ и ЦМ объектом поиска будут одни и те же клетки – бласты с цитоморфологическими и иммунофенотипическими чертами aberrантности (в отличие, например, от М5-варианта, при котором клетки имеют морфологические черты моноцитов и при описании миелограммы не учитываются при подсчете количества бластов).

Самая низкая сходимость результатов ИФТ и ЦМ была выявлена для случаев с ОМЛ М7. Вероятной причиной высокой доли расхождений является значи-

тельно отличающаяся специфичность 2 методов относительно данного варианта ОМЛ. В отличие от иммунофенотипических особенностей (отсутствие CD11a [23], CD371, частое наличие коэкспрессии CD7 и/или CD56 [24, 25]), позволяющих отделить даже малое количество опухолевых клеток от нормальных клеток, для клеток ОМЛ М7 не существует четких морфологических критериев, по причине чего их трудно детектировать в КМ во время терапии [19, 26].

Среди цитогенетических особенностей в группе ОМЛ с расходящимися результатами наиболее крупной оказалась группа с перестройкой гена *KMT2A* (36%). Как и в случае с М5-вариантом ОМЛ, данная генетическая группа была самой многочисленной в исследовании, чем может объясняться такая высокая доля этих образцов среди всех расходящихся. Тем не менее следует отметить сравнительно низкую сопоставимость результатов ИФТ и ЦМ внутри этой генетической группы (76%), обусловленную высокой гетерогенностью иммунофенотипических и морфологических особенностей ОМЛ с данной генетической aberrацией [27].

В нашем исследовании недостижение ремиссии по данным ЦМ никак не влияло на прогноз заболевания у пациентов, достигших ремиссии по данным ИФТ. Эти результаты полностью согласуются с данными других исследовательских групп об ограниченности применения ЦМ как для оценки достижения ремиссии, так и для мониторинга ответа на терапию при ОМЛ в целом [5, 10, 28]. При этом для проточной цитометрии использование аналогичного ЦМ порогового уровня (5%) для оценки статуса ремиссии оказалось недостаточным [28, 29]. Хотя данная точка наблюдения (окончание индукционной терапии) не является наиболее часто используемой для стратификации детей с ОМЛ [28, 29], пациенты с детектируемой на уровне «уверенного» выявления ($\geq 0,1\%$) МОБ имели очень высокую частоту рецидивов, превышающую таковую у МОБ-негативных пациентов ($< 0,1\%$) как в группе промежуточного, так и в группе высокого риска. Более того, рецидивы у МОБ-положительных пациентов случались значимо чаще, чем у детей, имевших высокое количество опухолевых клеток в КМ по окончании индукционной терапии (МОБ $\geq 5\%$), причем эти различия были наиболее существенными в группе промежуточного риска. Очевидно, что причиной такой разницы в прогнозе заболевания является то, что не вышедшие в ремиссию пациенты получали более интенсивную химиотерапию (блок FLAI вместо HAM), а дети из группы промежуточного риска еще и рестратифицировались в группу высокого риска, что предусматривало проведение ТГСК. В итоге для пациентов промежуточного риска вклад сохранения МОБ $\geq 0,1\%$ в неблагоприятный исход оказался решающим, превосходящим возможные негативные

эффекты от более интенсивной терапии и ТГСК (разница в ВББ). Для детей из группы высокого риска прогноз различался менее существенно, прежде всего потому что и быстро отвечающие пациенты (МОБ < 0,1) все равно имели ОМЛ с крайне неблагоприятными биологическими чертами и демонстрировали достаточно высокую частоту рецидивов и смертей в ремиссии. Можно сказать, что 5% порог МОБ для констатации достижения ремиссии, очевидно, не является адекватным, а интенсификация терапии и ТГСК необходима и пациентам с сохранением МОБ на существенно более низком уровне.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что исследование КМ методами ИФТ и ЦМ на момент окончания индукции у детей с ОМЛ обладает относительно высоким уровнем сопоставимости результатов оценки достижения ремиссии (83,3%). Тем не менее существует достаточно большое число пациентов, у которых ремиссия подтверждается только одним из методов (чаще проточной цитометрией), и эти расхождения имеют как биологиче-

ские, так и исключительно лабораторные причины. Определение ремиссии методом ЦМ слабо влияет на прогноз заболевания, однако и для ИФТ относительно стандартный порог в 5% опухолевых клеток представляется недостаточным. Можно предположить, что изменение терапии необходимо и пациентам с сохранением МОБ $\geq 0,1\%$ на этом этапе лечения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Mikhailova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3450-0498>
Kashpor S.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5220-7412>
Konyukhova T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6271-7435>
Dubrovina M.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8228-4876>
Voronin K.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7578-9657>
Kalinina I.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0813-5626>
Zerkalenskaya E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9634-5828>
Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>
Maschan A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0016-6698>
Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>
Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>

Литература

- Reinhardt D., Antoniou E., Waack K. Pediatric Acute Myeloid Leukemia—Past, Present, and Future. *J Clin Med* 2022; 11 (3): 504.
- Tomizawa D., Tsujimoto S.I. Risk-Stratified Therapy for Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Cancers (Basel)* 2023; 15 (16): 4171.
- Creutzig U., van den Heuvel-Eibrink M.M., Gibson B., Dworzak M.N., Adachi S., de Bont E., et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012; 120 (16): 3187–205.
- Obszanski P., Kozłowska A., Wancowiat J., Twardowska J., Lejman M., Zawitkowska J. Molecular-Targeted Therapy of Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Molecules* 2022; 27 (12): 3911.
- Inaba H., Coustan-Smith E., Cao X., Pounds S.B., Shurtleff S.A., Wang K.Y., et al. Comparative analysis of different approaches to measure treatment response in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2012; 30 (29): 3625–32.
- Schuurhuis G.J., Heuser M., Freeman S., Bene M.C., Buccisano F., Cloos J., et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood* 2018; 131 (12): 1275–91.
- Segerink W.H., de Haas V., Kaspers G.J.L. Measurable residual disease in pediatric acute myeloid leukemia: a systematic review. *Expert Rev Anticancer Ther* 2021; 21 (4): 451–9.
- Grimwade D., Vyas P., Freeman S. Assessment of minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *Curr Opin Oncol* 2010; 22 (6): 656–63.
- Conneely S.E., Stevens A.M. Acute Myeloid Leukemia in Children: Emerging Paradigms in Genetics and New Approaches to Therapy. *Curr Oncol Rep* 2021; 23 (2): 16.
- Loken M.R., Alonzo T.A., Pardo L., Gerbing R.B., Raimondi S.C., Hirsch B.A., et al. Residual disease detected by multidimensional flow cytometry signifies high relapse risk in patients with de novo acute myeloid leukemia: a report from Children's Oncology Group. *Blood* 2012; 120 (8): 1581–8.
- Buldini B., Maurer-Granofszky M., Varotto E., Dworzak M.N. Flow-Cytometric Monitoring of Minimal Residual Disease in Pediatric Patients With Acute Myeloid Leukemia: Recent Advances and Future Strategies. *Front Pediatr* 2019; 7: 412.
- van Weelderen R.E., Klein K., Harrison C.J., Jiang Y., Abrahamsson J., Arad-Cohen N., et al. Measurable Residual Disease and Fusion Partner Independently Predict Survival and Relapse Risk in Childhood

- KMT2A-Rearranged Acute Myeloid Leukemia: A Study by the International Berlin–Frankfurt–Munster Study Group. *J Clin Oncol* 2023; 41 (16): 2963–74.
13. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53 (282): 457–81.
14. Pokhrel A., Dyba T., Hakulinen T. A Greenwood formula for standard error of the age-standardised relative survival ratio. *Eur J Cancer* 2008; 44 (3): 441–7.
15. Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep* 1966; 50 (3): 163–70.
16. Prentice R.L., Kalbfleisch J.D., Peterson A.V. Jr, Flournoy N., Farewell V.T., Breslow N.E. The analysis of failure times in the presence of competing risks. *Biometrics* 1978; 34 (4): 541–54.
17. Gray R.J. A Class of K-Sample Tests for Comparing the Cumulative Incidence of a Competing Risk. *Ann Stat* 1988; 16 (3): 1141–54.
18. Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A., Gralnick H.R., 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.
19. Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A., Gralnick H.R., et al. Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocyte lineage (M7). A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985; 103 (3): 460–2.
20. Matarraz S., Almeida J., Flores-Montero J., Lecrevisse Q., Guerri V., Lopez A., et al. Introduction to the diagnosis and classification of monocytic-lineage leukemias by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2017; 92 (3): 218–27.
21. Varotto E., Munaretto E., Stefanachi F., Della Torre F., Buldini B. Diagnostic challenges in acute monoblastic/monocytic leukemia in children. *Front Pediatr* 2022; 10: 911093.
22. Khoury J.D., Solary E., Abla O., Akkari Y., Alaggio R., Apperley J.F., et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia* 2022; 36 (7): 1703–19.
23. Boztug H., Schumich A., Potschger U., Muhlegger N., Kolenova A., Reinhardt K., et al. Blast cell deficiency of CD11a as a marker of acute megakaryoblastic leukemia and transient myeloproliferative disease in children with and without Down syndrome. *Cytometry B Clin Cytom* 2013; 84 (6): 370–8.
24. Zangrando A., Cavagnero F., Scarparo P., Varotto E., Francescato S., Tregnago C., et al. CD56, HLA-DR, and CD45 recognize a subtype of childhood AML harboring CBFA2T3-GLIS2 fusion transcript. *Cytometry A* 2021; 99 (8): 844–50.
25. Brouwer N., Matarraz S., Nierkens S., Hofmans M., Novakova M., da Costa E.S., et al. Immunophenotypic Analysis of Acute Megakaryoblastic Leukemia: A Euro-Flow Study. *Cancers (Basel)* 2022; 14 (6): 1583.
26. Bloomfield C.D., Brunning R.D. FAB M7: acute megakaryoblastic leukemia--beyond morphology. *Ann Intern Med* 1985; 103 (3): 450–2.
27. Liu L.P., Zhang A.L., Ruan M., Chang L.X., Liu F., Chen X., et al. Prognostic stratification of molecularly and clinically distinct subgroup in children with acute monocytic leukemia. *Cancer Med* 2020; 9 (11): 3647–55.
28. Buldini B., Rizzati F., Masetti R., Fagioli F., Menna G., Micalizzi C., et al. Prognostic significance of flow-cytometry evaluation of minimal residual disease in children with acute myeloid leukaemia treated according to the AIEOP-AML 2002/01 study protocol. *Br J Haematol* 2017; 177 (1): 116–26.
29. Rubnitz J.E., Inaba H., Dahl G., Ribeiro R.C., Bowman W.P., Taub J., et al. Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukaemia: results of the AML02 multicentre trial. *Lancet Oncol* 2010; 11 (6): 543–52.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 17.01.2024
Принята к печати 14.02.2024



EDN: ISGWXM

Контактная информация:

Жарков Павел Александрович, доцент, д-р мед. наук, врач-педиатр, врач-гематолог консультативного отделения, заведующий лабораторией патологии гемостаза, профессор кафедры гематологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: pavel.zharkov@fccho-moscow.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-86-91

Фармакокинетические параметры применения симоктокога альфа у детей с гемофилией А без ингибиторов в реальной клинической практике

П.А. Жарков¹, Д.Б. Флоринский¹, Е.Э. Шиллер²

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

²ГБУЗ МО «Подольская детская больница», Подольск

Опыт применения симоктокога альфа у детей с гемофилией А без ингибиторов (ГА) в реальной клинической практике на территории нашей страны немногочислен и представлен описанием единичных случаев без оценки фармакокинетических параметров. Цель исследования – оценить фармакокинетические параметры при использовании симоктокога альфа у детей с ГА в реальной клинической практике. Проведен ретроспективный анализ данных медицинской документации детей с ГА, получавших симоктоког альфа в условиях одного Центра на территории Российской Федерации. Также оценивались следующие фармакокинетические параметры на фоне введения симоктокога альфа (Sysmex 2000): активность фактора VIII до момента введения препарата, через 4 ч и 24 ч от момента введения концентрата (одностадийный клоттинговый метод определения с Pathromtin SL). Все полученные параметры были введены в платформу для расчета фармакокинетических параметров WAPPS-Hemo, которые в дальнейшем использовались для определения ожидаемой активности вводимого фактора. Данное исследование не требовало одобрения этическим комитетом, так как были использованы обобщенные ретроспективные деперсонифицированные данные, полученные в ходе рутинной клинической практики. В исследование вошли 8 пациентов с тяжелой и среднетяжелой ГА. Медиана возраста на момент проведения фармакокинетики составила 9 лет 6 месяцев. У большинства пациентов 1 МЕ/кг симоктокога альфа приводил к повышению активности фактора более чем на 1%, максимальные значения составили 1,7%, минимальные – 0,82%. Четыре пациента получали адекватную дозу концентрата фактора (43–50 МЕ/кг), при этом 1 ребенок – недостаточную дозу (22 МЕ/кг) и 3 – высокие дозы (60 МЕ/кг, 71 МЕ/кг и 95 МЕ/кг) симоктокога альфа. Медиана сбалансированного расчетного периода полувыведения фактора составила 11,75 ч. Медиана сбалансированного расчета времени до достижения пациентом активности 5% (0,05 МЕ/мл) – 53,5 ч, 2% (0,02 МЕ/мл; $n = 5$) – 71,5 ч, 1% (0,01 МЕ/мл; $n = 3$) – 82,5 ч. Исходя из представленных результатов, полученных в реальной клинической практике, симоктоког альфа может эффективно применяться у детей с ГА в качестве профилактического препарата в режиме через день в целях достижения высокой остаточной активности (не менее 5%) или через два дня на третий для снижения количества инъекций на фоне остаточной активности фактора VIII не менее 1%.

Ключевые слова: симоктоког альфа, гемофилия А, кровотечения, безопасность, дети, профилактика

Жарков П.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 86–91.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-86-91

Pharmacokinetic parameters of simoctocog alfa in children with hemophilia A without inhibitors in real clinical practice

P.A. Zharkov¹, D.B. Florinsky¹, E.E. Shiller²

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

²Podolsk Children Hospital, Podolsk

In our country, experience in using simoctocog alfa in children with hemophilia A (HA) without inhibitors in real clinical practice is scarce and limited to few case reports without pharmacokinetic analysis. Aim of the study: to investigate the pharmacokinetics of simoctocog alfa in children with HA in real clinical practice. We carried out a retrospective analysis of data from medical records of children with HA treated with simoctocog alfa at a single healthcare center in the Russian Federation. For pharmacokinetic characterization of simoctocog alfa, we also measured the following parameters using the Sysmex 2000 Hematology System: factor VIII activity before the administration of simoctocog alfa, and then 4 hours and 24 hours after the infusion (one-stage clotting assay performed with Pathromtin SL reagent). All measured values were entered into the WAPPS-Hemo platform for the estimation of pharmacokinetic parameters, which were then used to calculate the expected activity of the deficient factor. Ethics committee approval was not required for this study because it involved the use of aggregated retrospective data from routine clinical practice that were fully anonymized. The study included 8 patients with severe and moderate HA. The median age at the time of pharmacokinetic study was 9 years 6 months. In most patients, 1 IU/kg of simoctocog alfa led to an increase in factor VIII activity of more than 1%; the maximum and the minimum values were 1.7% and 0.82%, respectively. Four patients received adequate doses of factor concentrate (43–50 IU/kg), 1 patient received factor concentrate at an insufficient dose (22 IU/kg), and 3 patients received high doses of simoctocog alfa (60 IU/kg, 71 IU/kg and 95 IU/kg). The median 'balanced' half-life estimate for FVIII was 11.75 hours. The median 'balanced' estimates of time to reach 5% FVIII activity (0.05 IU/mL), 2% activity (0.02 IU/mL) ($n = 5$) and 1% activity (0.01 IU/mL) ($n = 3$) were 53.5 hours, 71.5 hours and 82.5 hours, respectively. Our results obtained in clinical settings demonstrate that simoctocog alfa can be effectively used for prophylaxis in children with HA without inhibitors. It can be administered every other day to achieve high residual activity (at least 5%) or every third day in patients with FVIII residual activity of at least 1% in order to reduce the number of injections.

Key words: simoctocog alfa, hemophilia A, bleeding, safety, children, prophylaxis

Zharkov P.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 86–91.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-86-91

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 17.01.2024
Accepted 14.02.2024

Correspondence:

Pavel A. Zharkov, Associate Professor, Dr. Med. Sci., a pediatrician, a hematologist at the Outpatient Department, Head of the Laboratory of Hemostasis Disorder Research, Professor at the Department of Hematology and Cell Technologies at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: pavel.zharkov@fccho-moscow.ru

В последнее время можно наблюдать стремительный рост опций терапии пациентов с гемофилией А (ГА) [1, 2]. Возможен выбор между плазматическими и рекомбинантными концентратами фактора, между концентратами с удлинненным периодом полувыведения и нефакторной терапией эмицизумабом [3]. Развитие генной и ребалансирующей терапии также представляет большой прорыв в области достижения контроля за кровоточивостью [4, 5].

Симоктоког альфа (Нувик, Октафарма, Швеция) является рекомбинантным фактором VIII (FVIII) 4-го поколения, продуцируемым на клеточных линиях эмбриональной почки человека (клетки HEK293F). Нувик является полностью сульфатированным, что обеспечивает высокое сродство к циркулирующему фактору Виллебранда, содержит только человеческие гликаны, в связи с чем лишен потенциально антигенных эпитопов, присутствующих в рекомбинантных концентратах, полученных на клеточной линии хомяка. Симоктоког альфа показал свою эффективность и безопасность в качестве препарата для профилактического лечения в целях купирования кровотечений и при хирургических вмешательствах у детей и взрослых [6]. Данный препарат зарегистрирован на территории нашей страны в 2016 г. и внедрен в клиническую практику в 2018 г. [7]. На данный момент препарат рекомендован для лечения и профилактики кровотечений у пациентов с ГА любых возрастных групп [8]. Тем не менее данных по реальным фармакокинетическим параметрам и эффективности данного концентрата крайне мало [9, 10], на территории Российской Федерации они вовсе не представлены.

Цель данного исследования – оценка фармакокинетических параметров профилактического применения симоктокога альфа у детей с тяжелым и среднетяжелым течением ГА без ингибиторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование носило ретроспективный характер и представляло собой моноцентровый анализ данных медицинской документации детей с тяжелой и среднетяжелой ГА, которым была назначена профилактическая терапия препаратом симоктоког альфа (Нувик, Октафарма, Швеция). Были собраны и проанализированы данные о возрасте и весе пациента, дозе препарата, количестве кровотечений на терапии симоктокогом альфа. Для оценки параметров фармакокинетики использовались следующие точки: активность FVIII до момента введения концентрата, далее через 4 ч (разброс от 3:55 до 4:45) и 24 ч (разброс от 24:05 до 25:20) от момента введения

препарата. Далее все полученные параметры были проанализированы на платформе WAPPS-Немо. Оценивался расчет времени до достижения 0,05 МЕ/мл, 0,02 МЕ/мл и 0,01 МЕ/мл, а также период полувыведения (осторожный, сбалансированный и оптимистичный сценарий). Отдельно был построен график расчета фармакокинетики.

Данное исследование не требовало одобрения этическим комитетом, так как были использованы обобщенные ретроспективные деперсонифицированные данные, полученные в ходе рутинной клинической практики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В текущее исследование были включены данные 8 мальчиков с наследственной ГА, которым проводилась профилактическая терапия симоктокогом альфа. Медиана возраста на момент проведения фармакокинетического исследования составила 9 лет 6 месяцев (разброс от 8 до 17 лет). У всех пациентов был выставлен диагноз тяжелой или среднетяжелой ГА. Все пациенты находились более года на терапии симоктокогом альфа и на момент проведения исследования имели отрицательные значения ингибитора к FVIII (менее 0,6 единицы Бетезда). Из них 4 пациента получали концентрат в режиме через два дня на третий и 4 – в режиме 2 раза/нед. За последний год у пациента №1 наблюдалось более 3 гемартрозов, у пациентов №3 и №4 – по 1 гемартрозу, у остальных детей значимых кровотечений не было. Параметры, исследованные у пациентов, представлены в *таблице 1*.

На основании полученных данных у всех пациентов отмечается повышение активности FVIII через 4 ч от момента введения препарата. У большинства детей 1 МЕ/кг симоктокога альфа приводил к повышению активности фактора более чем на 1%, максимальные значения составили 1,7%, минимальные – 0,82%. Четыре пациента получали адекватную дозу концентрата фактора (43–50 МЕ/кг), при этом 1 ребенок – недостаточную дозу (22 МЕ/кг) и 3 – высокие дозы (60 МЕ/кг, 71 МЕ/кг и 95 МЕ/кг) симоктокога альфа. Через 24 ч от момента введения концентрата также почти у всех пациентов наблюдалась высокая активность FVIII, в 6 случаях – более 25% (*таблица 1*). Результаты, полученные для каждого пациента при помощи расчетной фармакокинетики приложения WAPPS-HEMO, представлены на *рисунке*.

Медиана сбалансированного расчетного периода полувыведения фактора составила 11,75 ч (*таблица 2*). Медиана сбалансированного расчета времени до достижения пациентом активности

Таблица 1
 Параметры фармакокинетики

Table 1
 Pharmacokinetic parameters

Пациент (базовая активность FVIII, %) Patient (baseline FVIII activity, %)	Возраст, годы Age, years	Активность FVIII до введения препарата, % FVIII activity before infusion, %	Активность FVIII через 4 ч от момента введения препарата, % FVIII activity 4 hours post infusion, %	Активность FVIII через 24 ч от момента введения препарата, % Factor VIII activity 24 hours post infusion, %	Доза симоктокога альфа, МЕ Dose of simoctocog alfa, IU	Доза симоктокога альфа, МЕ/кг Dose of simoctocog alfa, IU/kg	Повышение FVIII после введения 1 МЕ/кг, % FVIII recovery after a 1 IU/kg infusion, %
№1 (< 1)	8	0,5	20,1	9,6	500	22	0,89
№2 (< 1)	15	0,8	55,6	13,2	3000	47	1,16
№3 (< 1)	8	2,4	80,4	26,9	2000	95	0,82
№4 (< 1)	8	1,3	96,8	32,9	2000	71	1,34
№5 (< 1)	10	0,5	75	30,7	3000	60	1,16
№6 (< 1)	17	1	74,5	30,5	4000	50	1,47
№7 (4,5)	16	9	60,9	30,7	3000	43	1,2
№8 (4,8)	9	20	94	47,6	2000	43	1,7

5% (0,05 МЕ/мл) – 53,5 ч. У 2 последних пациентов (№7 и №8) она не была рассчитана, так как их активность до введения концентрата фактора составила более 5% (таблица 3). Медиана сбалансированного расчета времени до достижения пациентом активности 2% (0,02 МЕ/мл; $n = 5$) составила 71,5 ч (данные не представлены), 1% (0,01 МЕ/мл; $n = 3$) – 82,5 ч (данные не представлены).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Представленные результаты являются первым исследованием фармакокинетических параметров симоктокога альфа в детской когорте пациентов с ГА без ингибиторов в реальной клинической практике на территории Российской Федерации. Полученные данные демонстрируют адекватный процент повышения активности FVIII после введения 1 МЕ/кг концентрата. У 6 из 8 человек 1 МЕ/кг приводил к повышению активности FVIII более чем на 1%. По данным литературы известно, что стандартная доза концентрата FVIII 1 МЕ/кг должна приводить к повышению активности FVIII приблизительно на 2%, однако этот параметр рассчитан на взрослой когорте пациентов [10]. У детей наблюдаются менее высокие значения повышения активности FVIII после инфузии концентрата [11, 12]. В нашей когорте медиана возраста составила 9 лет и 6 месяцев, таким образом, повышение активности FVIII на 1% после введения 1 МЕ/кг концентрата можно признать удовлетворительным. При сравнении данных, полученных в ходе нашего исследования, с данными по фармакокинетике Нувика в GENA-13, также на детской популяции, наблюдается следующая картина: в GENA-13 отмечен более высокий процент восстановления (1,37–1,78%) [13].

Медиана сбалансированного расчетного периода полувыведения фактора составила 11,75 ч, что также является ожидаемым у пациентов на

Таблица 2
 Расчетный период полувыведения фактора (ч)

Table 2
 Estimated half-life of factor VIII concentrate (h)

Пациент Patient	Осторожный Conservative	Сбалансированный Balanced	Оптимистичный Optimistic
№1	10,5	13	16
№2	8,25	10	12
№3	8,5	10,25	12,25
№4	9,25	10,75	12,5
№5	10	11,75	13,5
№6	10	11,75	13,75
№7	10,25	13,25	17,5
№8	10	14,25	20,75

Таблица 3
 Расчетный период достижения пациентом активности 5% (0,05 МЕ/мл)

Table 3
 Estimated time to 5% FVIII activity (0.05 IU/mL) (h)

Пациент Patient	Осторожный Conservative	Сбалансированный Balanced	Оптимистичный Optimistic
№1	29,5	34,25	39,5
№2	34,25	39	44,5
№3	48,5	55,75	64
№4	48,25	54	60,25
№5	47,5	53	59,25
№6	48,25	54	60,5

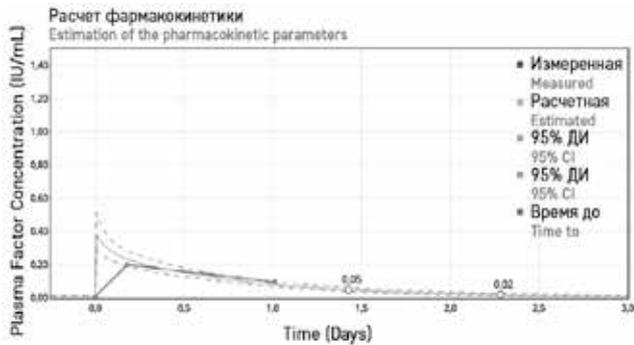
Примечание. По пациентам №7 и №8 данные не получены по техническим причинам.
 Note. Data for patients 7 and 8 are not available due to technical reasons.

терапии фактором со стандартным периодом полувыведения от 8 до 12 ч для взрослой популяции [4]. У детей наблюдается более высокий клиренс вводимого концентрата [11], в связи с чем значение около 12 ч является достойным результатом. При сравнении собственных данных с GENA-03 (также детская популяция, Нувик) результаты почти идентичны – $9,73 \pm 2,69$ ч [13]. Однако у взрослых пациентов на терапии симоктокогом альфа наблюдается более длительный период полувыведения – 17,1 ч (GENA-01) [13], что сравнимо с пролонгированными концентратами фактора [14].

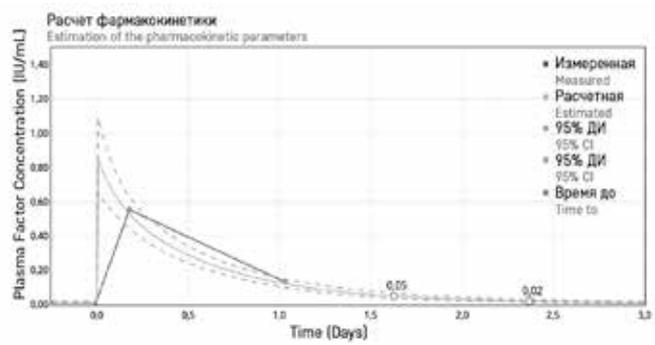
Рисунок
Фармакокинетика пациентов, включенных в исследование
ДИ – доверительный интервал

Figure
 The pharmacokinetics of the patients included in the study
 CI – confidence interval

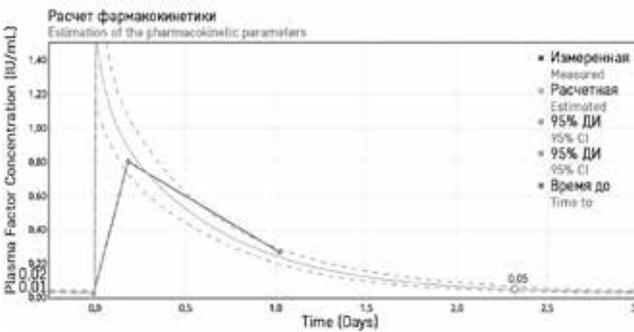
Пациент 1
 Patient 1



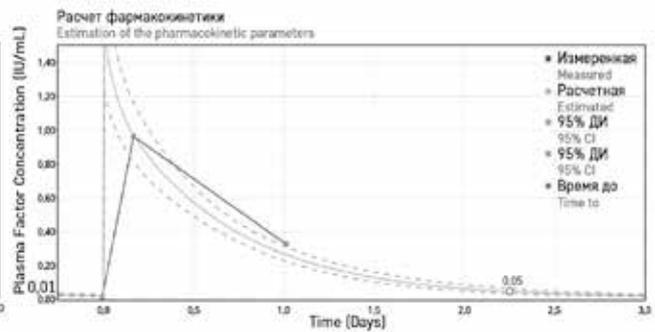
Пациент 2
 Patient 2



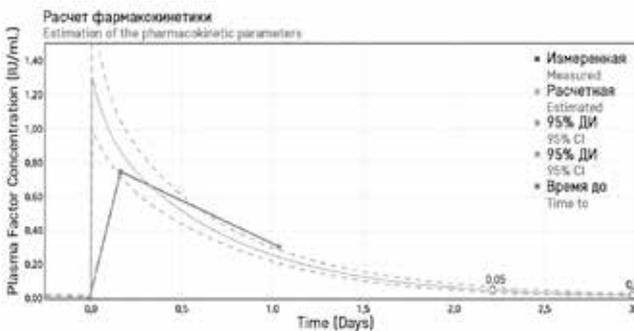
Пациент 3
 Patient 3



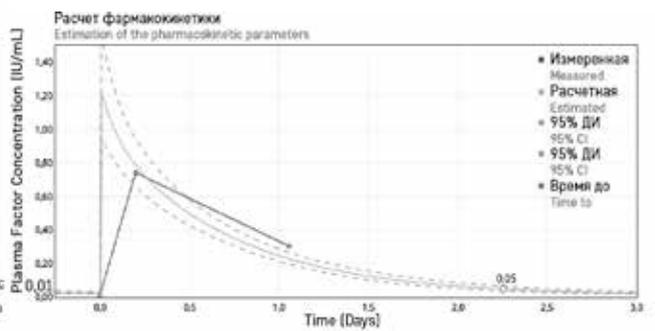
Пациент 4
 Patient 4



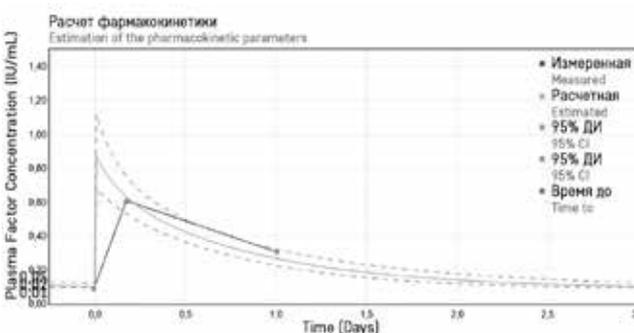
Пациент 5
 Patient 5



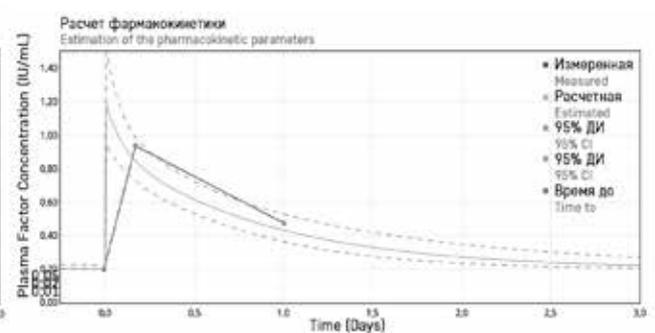
Пациент 6
 Patient 6



Пациент 7
 Patient 7



Пациент 8
 Patient 8



Медиана сбалансированного расчета времени до достижения пациентом активности 5% (0,05 МЕ/мл) составила 53,5 ч, поэтому мы с уверенностью можем говорить, что у детей на терапии данным концентратом при режиме профилактического введения через день всегда будет поддерживаться активность FVIII не менее 5%, и таким образом пациент переходит в группу больных с легкой гемофилией, для которых нехарактерна спонтанная кровоточивость [15]. При этом медиана сбалансированного расчета времени до достижения пациентом активности 2% (0,02 МЕ/мл; $n = 5$) составила 71,5 ч, 1% (0,01 МЕ/мл; $n = 3$) – 82,5 ч, таким образом, чтобы поддерживать активность дефицитного фактора более 1–2% возможно введение концентрата через два дня на третий, однако в данном случае пациент будет находиться не менее 18 ч с активностью дефицитного фактора менее 5%, что не позволяет добиться полного отсутствия спонтанной кровоточивости [15]. У взрослой когорты пациентов на терапии симоктокогом альфа удалось достичь значимого сокращения количества инъекций (у 57% пациентов введение концентрата не чаще 2 раз/нед) [13].

При этом стоит отдельно сказать, что все пациенты, представленные в данном анализе, вводили фактор либо в режиме 2 раза/нед, либо через два дня на третий, и, несмотря на полученные результаты фармакокинетики, значимые кровотечения наблюдались лишь у 1 пациента на профилактической терапии в недостаточной дозе. Все остальные пациенты не развивали значимой кровоточивости и были удовлетворены режимом терапии.

При сопоставлении полученных данных с результатами применения рекомбинантного концентрата со стандартным периодом полувыведения Адвейт (период полувыведения в группе пациентов 2–12 лет составил 9,95 ч, в группе пациентов 12–16 лет – 12,27 ч) Нувик демонстрирует более длительный период полувыведения фактора (11,75 ч) [16].

При сравнении фармакокинетических параметров пациентов, включенных в наше исследование, с данными детской популяции на терапии эфморкок-

токогом альфа (пролонгированный концентрат FVIII) отмечено следующее: период полувыведения FVIII на эфморкоктокоге альфа у детей до 6 лет составил 12,3 ч, 6–11 лет – 13,5 ч, 12–17 лет – 16 ч и во взрослой группе старше 15 лет – 19 ч. Таким образом, в группе пациентов, которая максимально приближена к нашей по медиане возраста, период полувыведения составил 13,5 ч, что сопоставимо с таковым у симоктокога альфа [14, 17].

В нашей группе пациентов на терапии симоктокогом альфа не отмечалось нежелательных явлений, анафилактических реакций и прорывных кровотечений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Симоктоког альфа продемонстрировал хорошие результаты фармакокинетики у детей. Введение стандартных доз концентрата позволяет добиться периода полувыведения, близкого к таковому при использовании пролонгированных концентратов. Нувик рекомендуется к использованию у пациентов с ГА без ингибиторов в качестве профилактического препарата в режиме через день в целях достижения высокой остаточной активности (не менее 5%) или через два дня на третий для снижения количества инъекций на фоне остаточной активности FVIII не менее 1%. Применение платформы WAPPS-Нето в реальной клинической практике позволяет индивидуализировать подход к заместительной профилактике у детей с ГА и выявить пациентов, которые могут снизить количество инфузий на фоне достаточной остаточной активности FVIII.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Zharkov P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

Florinskiy D.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4555-9332>

Shiller E.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0434-6474>

Литература

1. Giordano P., Franchini M., Las-sandro G., Faienza M.F., Valente R., Molinari A.C., et al. Issues in pediatric haemophilia care. *Ital J Pediatr* 2013; 39: 24. DOI: 10.1186/1824-7288-39-24
2. Флоринский Д.Б., Жарков П.А. Современные подходы к лечению гемофилии. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2020; 19 (3): 131–8. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-131-138 [Florinskiy D.B., Zharkov P.A. Modern approaches in hemophilia therapy. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2020; 19 (3): 131–8. (In Russ.)].

3. Bhardwaj R., Rath G., Goyal A.K. Advancement in the treatment of haemophilia. *Int J Biol Macromol* 2018; 118 (Pt A): 289–95. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.084
4. Páramo J.A. Treatment of haemophilia: From replacement to gene therapy. *Med Clin (Barc)* 2021; 157 (12): 583–7. DOI: 10.1016/j.medcli.2021.04.031
5. Mancuso M.E., Male C., Kenet G., Kavakli K., Königs C., Blatný J., Fijnvandraat K. Prophylaxis in children with haemophilia in an evolving treatment landscape. *Haemophilia* 2021; 27 (6): 889–96. DOI: 10.1111/hae.14412
6. Klukowska A., Szczepański T., Vdovin V., Knaub S., Bichler J., Jansen M., et al. Long-term tolerability, immunogenicity and efficacy of Nuwiq® (human-cl rhFVIII) in children with severe haemophilia A. *Haemophilia* 2018; 24 (4): 595–603. DOI: 10.1111/hae.13460
7. [Электронный ресурс] URL: <https://base.garant.ru/51529985/> (дата обращения 31.01.2024).
8. [Электронный ресурс] URL: <https://www.rlsnet.ru/drugs/nuvik-75407> (дата обращения 31.01.2024).
9. Liesner R.J., Abraham A., Altisent C., Belletrutti M.J., Carcao M., Carvalho M., et al. Simoctocog Alfa (Nuwiq) in Previously Untreated Patients with Severe Haemophilia A: Final Results of the NuProtect Study. *Thromb Haemost* 2021; 121 (11): 1400–8. DOI: 10.1055/s-0040-1722623
10. Tiefenbacher S., Albisetti M., Baker P., Kappert G., Kitchen S., Kremer Hovinga J.A., et al.; Nuwiq Field Study Participating Laboratories. Estimation of Nuwiq® (simoctocog alfa) activity using one-stage and chromogenic assays – Results from an international comparative field study. *Haemophilia* 2019; 25 (4): 708–17. DOI: 10.1111/hae.13763
11. Turecek P.L., Johnsen J.M., Pipe S.W., O'Donnell J.S.; iPATH study group. Biological mechanisms underlying inter-individual variation in factor VIII clearance in haemophilia. *Haemophilia* 2020; 26 (4): 575–83. DOI: 10.1111/hae.14078
12. Дмитриев В.В., Волкова Л.И., Дмитриев Е.В. Профилактика кровотечений и фармакокинетика фактора свертывания крови VIII у детей с тяжелой гемофилией А. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016; 15 (3): 19–22. DOI: 10.24287/1726-1708-2016-15-3-19-22 [Dmitriev V.V., Volkova L.I., Dmitriev E.V. Secondary prevention of hemorrhagic complications and pharmacokinetics of factor VIII in children with severe hemophilia A. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2016; 15 (3): 19–22. (In Russ.)].
13. Morfini M. Simoctocog alfa for the treatment of hemophilia A. *Expert Opin Biol Ther* 2017; 17 (12): 1573–80. DOI: 10.1080/14712598.2017.1391785
14. Frampton J.E. Efmoroctocog Alfa: A Review in Haemophilia A. *Drugs* 2021; 81 (17): 2035–46. DOI: 10.1007/s40265-021-01615-w. Erratum in: *Drugs* 2022; 82 (1): 95.
15. Benson G., Auerswald G., Dolan G., Duffy A., Hermans C., Ljung R., et al. Diagnosis and care of patients with mild haemophilia: practical recommendations for clinical management. *Blood Transfus* 2018; 16 (6): 535–44. DOI: 10.2450/2017.0150-17
16. Dhillon S. Octocog alfa, antihaemophilic factor (recombinant), plasma/albumin free method (Advate®): a review of its use in the management of patients with haemophilia A. *Drugs* 2012; 72 (7): 987–1007. DOI: 10.2165/11207480-000000000-00000
17. Pouplard C., Sattler L., Ryman A., Eschwege V., De Maistre E., Flaujac C., et al.; 'Biology Study Group on Haemorrhagic Diseases' (Group BIMHO – GFHT). Multicentre pharmacokinetic evaluation of rFVIII-Fc (efmoroctocog alfa) in a real life and comparison with non-extended half-life FVIII concentrates. *Haemophilia* 2020; 26 (2): 282–9. DOI: 10.1111/hae.13946

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 23.10.2023
Принята к печати 16.01.2024



EDN: JNKTSR

Контактная информация:

Миндукшев Игорь Викторович,
д-р биол. наук, заведующий лабораторией
клеточных механизмов гомеостаза крови
Института эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Адрес: 194223, Санкт-Петербург,
просп. Тореза, 44
E-mail: iv_mindukshev@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-92-98

Влияние температуры на тромбоцитарный гемостаз, индуцированный различными агонистами

И.А. Добрылко, А.А. Волкова, Б.А. Герда, Д.М. Михайлова, С.П. Гамбарян, И.В. Миндукшев

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Активация, изменение формы (shape change) и агрегация тромбоцитов являются активными процессами, которые могут существенно зависеть от температуры окружающей среды. Однако в литературе данные о влиянии температуры на состояние тромбоцитов крайне противоречивы. В представленной работе методом лазерной дифракции исследовали влияние температуры на реакцию тромбоцитов человека, активированных различными агонистами: ADP, тромбоксаном (миметик U46619), тромбином (TRAP-6), которые действуют через рецепторы, связанные с G-белками, и коллагеном, активирующим иммуноглобулиновый рецептор GPVI. Для агонистов, которые активируют рецепторы, связанные с G-белками, показано, что увеличение температуры вызывает ускорение начальной реакции активации (shape change) и практически не влияет на чувствительность действия агонистов (EC_{50}). В то же время гипотермия при низких дозах агонистов потенцирует агрегацию тромбоцитов, что существенно отличается от действия коллагена, который при увеличении температуры ускоряет ее на всем исследуемом диапазоне. В представленной работе мы показали, что влияние температуры на процессы активации тромбоцитов зависит как от дозы агонистов, так и от активируемых рецепторов. В исследовании принимали участие здоровые добровольцы после подписания информированного согласия. Забор крови проводили в соответствии с рекомендациями Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН и Хельсинкской декларацией. Исследования с использованием эритроцитов человека одобрены этическим комитетом Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (протоколы №3-03 от 2 марта 2021 г. и №1-04 от 7 апреля 2022 г.).

Ключевые слова: тромбоцитарный гемостаз, температура, лазерная дифракция, ADP, U46619, тромбин, TRAP-6, коллаген

Добрылко И.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 92–8. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-92-98

The influence of temperature on platelet hemostasis induced by various agonists

I.A. Dobrylko, A.A. Volkova, B.A. Gerda, D.M. Mikhailova, S.P. Gambaryan, I.V. Mindukshev

The I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg

Platelet activation, shape change and aggregation are active processes that can be significantly dependent on the ambient temperature. However, there are conflicting data in the literature regarding the effect of temperature on platelets. In our work, we used a laser diffraction method to investigate the influence of temperature on the reaction of human platelets activated by various agonists: ADP, U46619 (thromboxane mimetic), and thrombin (TRAP-6), that act through G-protein coupled receptors, and collagen, that activates the immunoglobulin receptor GPVI. For agonists that activate G-protein coupled receptors, we showed that an increase in temperature causes an acceleration of the initial platelet activation (shape change) and has no significant effect on agonist sensitivity (EC_{50}). At the same time, hypothermia at low doses of such agonists potentiates platelet aggregation, which differs significantly from the effect of collagen. With increasing temperature, collagen accelerates platelet aggregation over the entire range of temperatures investigated. In this paper, we showed that the effect of temperature on platelet activation processes depends on both the dose of agonists and the type of activated receptors. In our study, we included healthy volunteers after obtaining a written informed consent. Blood samples were taken in accordance with the guidelines of the I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences and the Declaration of Helsinki. Studies with human erythrocytes were approved by the Ethics Committee of the I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences (Protocol No.3-03 dated 2 March 2021 and Protocol No.1-04 dated 7 April 2022).

Key words: platelet hemostasis, temperature, laser diffraction, ADP, U46619, thrombin, TRAP-6, collagen

Dobrylko I.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 92–8. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-92-98

Гемостаз – сложный процесс, включающий первичный (активация тромбоцитов) и вторичный (активация свертывающей системы) гемостаз. Как первичный, так и вторичный гемостаз высокочувствителен к изменениям окружающей среды и температуры тела, тяжелые нарушения

этой системы могут возникать при гипер- и гипотермии и впоследствии вызывать коагулопатию, приводящую к кровоизлияниям или тромботическим явлениям [1–4]. Тем не менее гипер- и гипотермия используются в нескольких клинических ситуациях, например, для охлаждения пациента,

которое обычно применяется в кардиохирургии для защиты органов от ишемии [5]. Локальная гипотермия используется в качестве адъювантной терапии при различных онкологических заболеваниях [6, 7].

В литературе приводятся противоречивые данные о влиянии температуры на состояние тромбоцитов. В большинстве исследований показано, что гипотермия ускоряет активацию и агрегацию тромбоцитов [8–15], но существуют и противоположные данные, показывающие, что тромбоциты гиперактивны при высоких температурах [16, 17]. Молекулярные механизмы, отвечающие за ответ тромбоцитов на изменения температуры окружающей среды, изучены не полностью. Считается, что ADP играет ключевую роль в активации тромбоцитов, вызванной гипотермией [8, 9], и что гипотермия усиливает агрегацию тромбоцитов при низких и средних дозах ADP, тогда как при высоких дозах ADP (10–20 мкм) эффекты были незначительными или даже отсутствовали [11, 12, 15]. Кроме того, активация интегрина $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ тромбоцитов и выход на поверхность P-селектина усиливались при гипотермии. Однако влияние температуры на высвобождение гранул и дозозависимость по агрегации не было однозначным [10, 11, 15]. Эти различия не были связаны с изменениями экспрессии $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ или GPIIb α , а гипотермия не влияла на связывание фактора Виллебранда с тромбоцитами [9, 18]. Также гипотермия не влияла на ADP-индуцированное ингибирование фосфорилирования VASP в тромбоцитах здоровых добровольцев как в контроле, так и при ингибировании P2Y₁₂ рецептора ADP клопидогрилом [12]. В наших исследованиях было показано, что при активации тромбоцитов ADP температура разнонаправленно влияет на кинетику начальных реакций клеточного гемостаза. При гипотермии снижается скорость реакции изменения формы (shape change), но увеличивается скорость агрегации при низких дозах ADP [19]. В рассмотренных работах эффект температуры прослеживался при действии ADP и практически не исследован при действии других агонистов, активирующих тромбоциты в крови, таких как коллаген, тромбоксан, тромбин. Именно сравнительный анализ влияния температуры на начальные реакции тромбоцитарного гемостаза при действии различных индукторов является основной целью представленного исследования. Показано, что тромбоксан (миметик U46619) и тромбин проявляют сходный с ADP механизм действия: при низких дозах агониста гипотермия потенцирует агрегацию. При действии коллагена такого эффекта гипотермии не наблюдается, увеличение температуры ускоряет агрегацию тромбоцитов на всем исследуемом диапазоне.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы

В работе использовались ADP, TRAP-6, U46619, тромбин, коллаген, полученные из Sigma-Aldrich (Seelze, Германия).

Подготовка тромбоцитов

Человеческую кровь получали от здоровых добровольцев, не принимавших никаких лекарств минимум 10 дней до экспериментов, после подписания информированного согласия. Забор крови проводили в соответствии с рекомендациями Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН и Хельсинкской декларацией. Исследования с использованием эритроцитов человека одобрены этическим комитетом Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (протоколы №3–03 от 2 марта 2021 г. и №1–04 от 7 апреля 2022 г.). Венозную кровь от доноров собирали в 1/7 объема буфера ACD (2,5% цитрат натрия, 2% D-глюкоза, 1,5% лимонная кислота, 3 mM EGTA, pH 6.7) и центрифугировали при 330g в течение 5 мин. В течение исследований PRP сохраняют при 25°C. При проведении экспериментов в анализаторе «ЛАСКА-ТМ» (или «ЛАСКА-ТМФ») PRP ресуспендировали в буфере HEPES (150 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 5 mM D-глюкоза, 10 mM HEPES, pH 7.4) с конечной концентрацией тромбоцитов 1×10^7 клеток/мл.

Лазерная дифракция (малоугловое светорассеяние)

Метод лазерной дифракции реализуется на анализаторе «ЛАСКА-ТМ» («БиоМедСистем», Санкт-Петербург, Россия). Длина волны лазера – 650 нм. Кювета (10 × 10 мм) с кварцевыми стенками и рабочим объемом 1 мл. Мешалка с магнитным приводом и оборотом волчка 1200 об/мин (rpm). Термостатирование кюветного отделения от 10 до 50°C (шаг 0,5°C). Многоканальная система регистрации и записи 32 сигналов, частота дискретизации 10 Гц. Анализатор осуществляет одновременную динамическую регистрацию интенсивности светорассеяния (LSI) в диапазоне углов 0,1–12° (32 фотодиода), что позволяет регистрировать кинетику трансформации клеток (размер, форма, количество) в условиях функционального воздействия. Начальная реакция активации тромбоцитов – shape change – регистрируется по повышению LSI в угле 12° (LSI(12)). Агрегация регистрируется как повышение LSI в угле 1° (LSI(1)) и одновременное снижение LSI(12), соответственно, при дезагрегации эти сигналы инвертируются [19]. Начальная скорость

агрегации оценивается через 20 с после добавления агониста. Агрегация также характеризуется величиной AUC_{agg} как площадь под кривой сигнала LSI(1) за 3 мин.

Анализ данных

Данные лазерной дифракции рассчитывали с использованием оригинального программного обеспечения лазерного анализатора частиц LaSca_32 v.1622 («БиоМедСистем», Санкт-Петербург, Россия). Для анализа данных применяли GraphPad Prism v.9 (GraphPad Software Inc., США). По критерию Шапиро–Уилка данные были нормально распределены, поэтому для групповых сравнений использовался односторонний или двусторонний дисперсионный анализ. Там, где это применимо, статистическую значимость результатов определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Каждый набор данных представляет собой не менее 5 различных экспериментов на материале, взятом не менее чем от 5 здоровых добровольцев. Данные представлены как среднее значение \pm доверительный интервал ($M \pm m$). Различия между значениями считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние температуры при действии ADP

Первичная стадия активации тромбоцитов связана с shape change, когда клетки из диско-видных сферизуются. При действии основных агонистов реакция shape change реализуется быстро (в течение нескольких секунд) и связана с перестройкой цитоскелета клетки. Методом лазерной дифракции реакция shape change регистрируется по увеличению LSI(12) [11]. Агрегация тромбоцитов является следующей за процессом shape change и обусловлена фибриногеновой связью клеток через активированные интегриновые рецепторы $\alpha IIb\beta 3$. При агрегации поведение сигналов LSI в разных углах разнонаправленное: в близких углах (LSI(1)) наблюдается повышение сигнала, в области дальних углов (LSI(12)) – снижение сигнала [11]. Количественно

изменения реакции тромбоцитов можно охарактеризовать 2 основными параметрами: EC_{50} и изменением максимальной скорости реакции (V_{max}). В таблице 1 приведены значения EC_{50} и V_{max} для этих 2 процессов (shape change и агрегация), оцененных при гипо-, гипертермии и нормальной физиологической температуре (37°C). Скорость реакции (V_{max}) изменения формы увеличивается почти в 3 раза при увеличении температуры от 25 до 37°C. Тогда как чувствительность (EC_{50}) достоверно не меняется и остается в пределах 40–50 нМ. В то же время при агрегации повышение температуры приводит к снижению чувствительности (увеличение величины EC_{50}), а V_{max} агрегации достоверно не меняется (таблица 1).

На рисунке 1 представлена зависимость агрегации тромбоцитов, индуцированных 800 нМ ADP при различных температурах. Повышение температуры, определяемое как уменьшение сигнала LSI(1) и увеличение сигнала LSI(12), вызывает замедление агрегации и усиливает процесс дезагрегации. Для интегральной оценки процессов агрегации и дезагрегации используется такой показатель, как площадь под кривой AUC_{agg} за 3 мин, который характеризует оба эти процесса. Максимальная величина AUC_{agg} наблюдается при 25°C, повышение температуры приводит к снижению AUC_{agg} за счет нарастания процесса дезагрегации.

Влияние температуры при действии U46619 (миметик тромбоксана)

Для оценки тромбоцитарного гемостаза, индуцированного тромбоксаном, был использован стабильный аналог (миметик) U46619. Использовалась доза 300 нМ U46619, при которой начальная скорость агрегации достигает половинной величины от максимальной. Исследование динамики начального процесса изменения формы клеток при различной температуре показало, что скорость реакции резко увеличивается при повышении температуры (рисунок 2А), при этом период полуреакции ($\tau_{1/2}$) увеличивается более чем в 5 раз при снижении температуры с 41 до 10°C (рисунок 2Б).

Таблица 1

Значения EC_{50} и V_{max} , оцененной по скорости реакций shape change (V_{shape}) и агрегации при различных температурах, для ADP

Table 1

EC_{50} and V_{max} values for ADP-induced platelet shape change and aggregation at different temperatures

Температура, °C Temperature, °C	Изменение формы Shape change		Агрегация Aggregation	
	EC_{50} , нМ EC_{50} , nM	V_{max} , %	EC_{50} , нМ EC_{50} , nM	V_{max} , %
25	40,9 \pm 9,9	38,5 \pm 7,5*	96 \pm 16*	82,7 \pm 6,8
37	46,4 \pm 9,1	100,0 \pm 11,8	594 \pm 76	100,0 \pm 5,3
41	49,4 \pm 8,6	132,9 \pm 10,6*	800 \pm 61*	90,2 \pm 6,8

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – $p < 0,05$ в сравнении с температурой 37°C. В серии экспериментов за 100% приняты значения V_{max} при температуре 37°C.

Notes. Here and in Table 2: * – $p < 0,05$ when compared with 37°C. In a series of experiments, the maximum values of speed V_{max} at a temperature of 37°C were taken as 100%.

Зависимость агрегации тромбоцитов при активации U46619 (500 нМ) от температуры сходна с процессом, который наблюдается при действии ADP: гипотермия усиливает агрегацию и повышение температуры приводит к ее задержке (рисунки 3А), а зависимость AUC_{agg} от температуры еще более выраженная с максимумом при температуре 25°C (рисунки 3Б).

Влияние температуры при активации тромбином и агонистом тромбинового рецептора PAR-1 (TRAP-6)

Тромбин помимо прямого действия на тромбоциты, обусловленного активацией соответствующих рецепторов, вызывает образование фибрина, что приводит к формированию сгустка (первоначально крупных агрегатов). В этих условиях достаточно сложно отделить 2 процесса: агрегацию с участием интегриновых рецепторов $\alpha IIb\beta 3$ и коагуляцию, при

которой образуются крупные агрегаты, сплетенные фибрином. Например, в условиях гипертермии (41°C) первоначально наблюдается задержка агрегации, но далее через 2–3 мин – резкий агрегационный ответ, по-видимому, обусловленный образованием фибрина, так как на следующей стадии все сигналы снижаются к фоновому уровню [19]. При агрегации, индуцированной тромбином, повышение температуры также вызывает снижение начальной скорости агрегации (рисунки 4А). Максимальная агрегационная активность, оцененная по AUC_{agg} (за 3 мин), наблюдается в диапазоне температур 28–32°C (рисунки 4Б).

Для того чтобы исключить влияние коагуляции, был использован TRAP-6 – агонист тромбинового рецептора PAR-1. Были проведены исследования влияния температуры на 2 процесса индуцированных TRAP-6: shape change и агрегация. На рисунке 5 представлена дозозависимость реакций shape change

Рисунок 1

Зависимость агрегации тромбоцитов, индуцированных 800 нМ ADP, от температуры 15, 20, 25, 32, 37 и 41°C. А – динамика изменения LSI(1) и LSI(12). Масштаб графика для LSI(12) увеличен в 50 раз; Б – зависимость степени агрегации, оцененной по AUC_{agg} , от температуры. В серии экспериментов за 100% принимается значение AUC_{agg} при температуре 37°C. В рамке показана графическая оценка величины AUC_{agg} за 3 мин по динамике LSI(1)

Figure 1

The dependence of platelet aggregation induced by ADP (800 nM) on the temperature: 15 °C, 20 °C, 25 °C, 32 °C, 37 °C, 41 °C. А – changes in the light scattering intensity (LSI) at angles of 1° and 12°: LSI(1) and LSI(12). The scale of the plot for LSI(12) is increased 50-fold; Б – the dependence of the degree of platelet aggregation, assessed by AUC_{agg} , on the temperature. In a series of experiments, the AUC_{agg} value at a temperature of 37°C is taken as 100%. The box shows the AUC_{agg} over 3 minutes representing the sum of measurements of LSI(1)

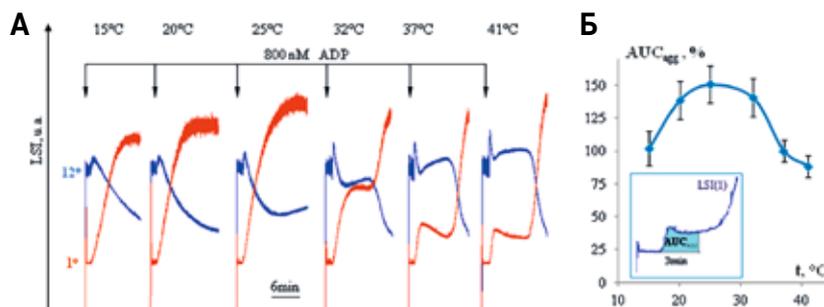


Рисунок 2

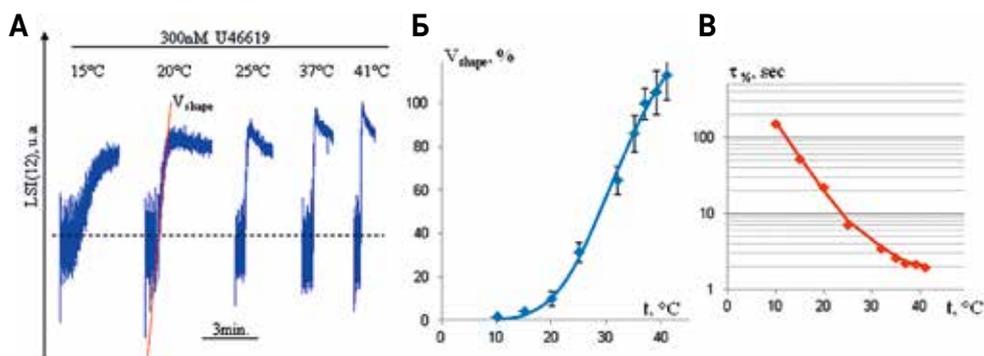
Зависимость реакции shape change тромбоцитов, индуцированных 300 нМ U46619 (миметик тромбоксана), от температуры 15, 20, 25, 37 и 41°C

А – динамика изменения LSI(12). Графически показано определение показателя V_{shape} ; Б – зависимость V_{shape} от температуры. В серии экспериментов за 100% принимается значение скорости при температуре 37°C; В – зависимость периода полуреакции ($\tau_{1/2}$) от температуры

Figure 2

The dependence of platelet shape change reaction induced by U46619 (thromboxane mimetic) at a concentration of 300 nM on the temperature: 15 °C, 20 °C, 25 °C, 37 °C, 41 °C

А – changes in the LSI(12). The determination of the velocity of platelet shape change (V_{shape}) is shown; Б – the dependence of V_{shape} on the temperature. In a series of experiments, velocity at a temperature of 37°C is taken as 100%; В – the dependence of half-reaction time ($\tau_{1/2}$) on the temperature



и агрегации для температуры 25°C и 37°C. Скорость реакции shape change (V_{max}) от температуры 25°C до 37°C увеличивается более чем в 2 раза, в то же время чувствительность (EC_{50}) изменяется незначительно и остается в пределах 200 нм (таблица 2). Для агрегации чувствительность снижается при повышении температуры (как увеличение величины EC_{50}), в то же время максимальная скорость агрегации при повышении

температуры увеличивается (таблица 2). По существу влияние температуры на тромбоцитарный гемостаз, индуцированный TRAP-6, сходно с температурным воздействием на гемостаз, вызванный ADP.

Влияние температуры при действии коллагена

Коллаген в отличие от остальных использованных агонистов (ADP, тромбоксан, тромбин), которые акти-

Рисунок 3

Зависимость агрегации тромбоцитов, индуцированных 500 нм U46619, от температуры 15, 20, 25, 28, 32 и 37°C. А – динамика изменения LSI(1) и LSI(12). Масштаб графика для LSI(12) увеличен в 50 раз; Б – зависимость от температуры степени агрегации, оцененной по AUC_{agg} . Показатель AUC_{agg} оценивается за 3 мин от добавления индуктора. В серии экспериментов за 100% принимается значение AUC_{agg} при температуре 37°C

Figure 3

The dependence of platelet aggregation induced by U46619 at 500 nM on the temperature: 15 °C, 20 °C, 25 °C, 28 °C, 32 °C, 37 °C

А – changes in LSI(1) and LSI(12). The scale of the plot for LSI(12) is increased 50-fold; Б – the dependence of the degree of aggregation estimated by AUC_{agg} on the temperature. The AUC_{agg} is measured over 3 minutes after the addition of the inducer. The AUC_{agg} value at a temperature of 37°C is taken as 100%

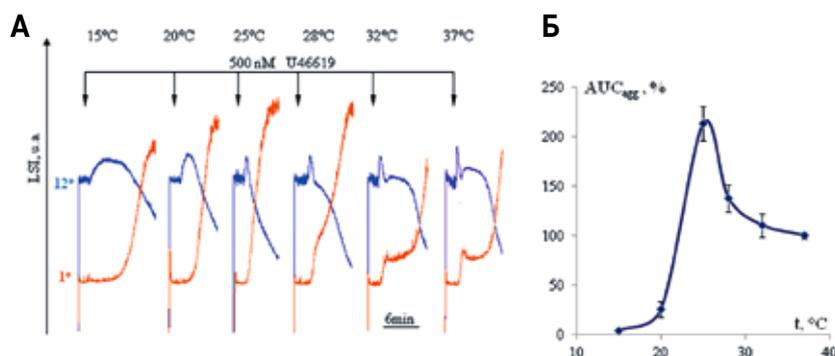


Рисунок 4

Зависимость агрегации тромбоцитов, индуцированных 0,01 Ед/мл тромбина, от температуры 10, 15, 20, 25, 28, 32, 35, 37, 39 и 41°C

А – динамика изменения LSI(1) и LSI(12). Масштаб графика для LSI(12) увеличен в 50 раз; Б – зависимость от температуры степени агрегации, оцененной по AUC_{agg} за 3 мин. В серии экспериментов за 100% принимается значение AUC_{agg} при температуре 37°C

Figure 4

The dependence of platelet aggregation induced by thrombin at a concentration of 0.01 U/mL on the temperature: 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C, 28 °C, 32 °C, 35 °C, 37 °C, 39 °C, 41 °C

А – changes in LSI(1) and LSI(12). The scale of the plot for LSI(12) is increased 50-fold; Б – the dependence of the degree of aggregation measured by AUC_{agg} over 3 minutes on the temperature. The AUC_{agg} value at a temperature of 37°C is taken as 100%

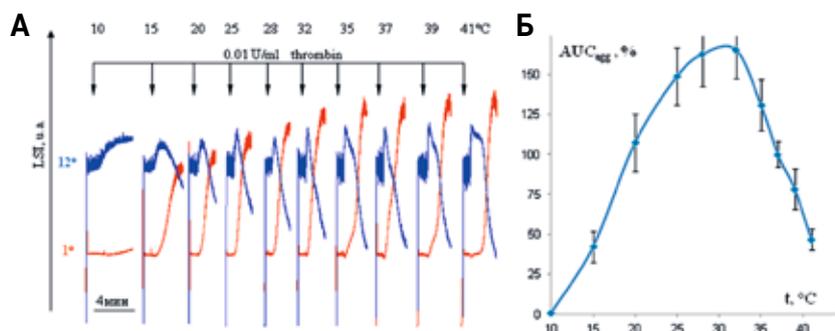


Таблица 2

Значения EC_{50} и V_{max} , оцененной по V_{shape} и агрегации при различных температурах, для TRAP-6

Table 2

EC_{50} and V_{max} values for TRAP-6 induced platelet shape change and aggregation at different temperatures

Температура, °C Temperature, °C	Изменение формы Shape change		Агрегация Aggregation	
	EC_{50} , нм EC_{50} , nM	V_{max} , %	EC_{50} , нм EC_{50} , nM	V_{max} , %
25	186,2 ± 7,4	40,5 ± 10,2*	1854 ± 62*	72,5 ± 7,9*
37	204,0 ± 18,7	100,0 ± 11,8	2267 ± 98	100,0 ± 3,7

Рисунок 5

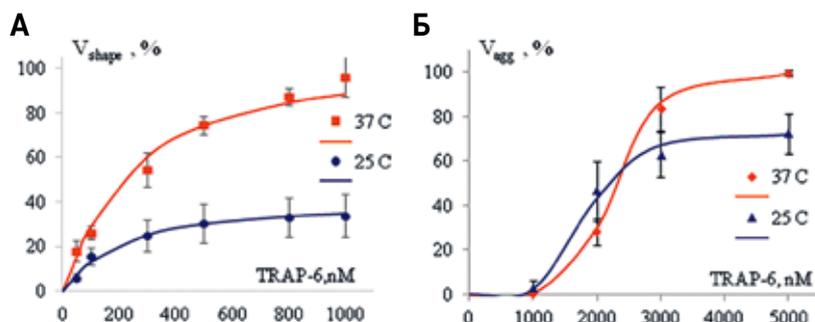
Зависимость доза–эффект для реакций трансформации тромбоцитов, индуцированных TRAP-6, для температуры 25°C и 37°C

А – зависимость показателя V_{shape} от TRAP-6. В серии экспериментов за 100% принимается значение V_{shape} при температуре 37°C и дозе 1000 нМ TRAP-6; Б – зависимость начальной V_{agg} от TRAP-6. В серии экспериментов за 100% принимается значение V_{agg} при температуре 37°C и дозе 5000 нМ TRAP-6

Figure 5

Concentration-response relationship for platelet transformation reactions in response to TRAP-6 at temperatures of 25°C and 37°C

А – the dependence of the V_{shape} on the concentration of TRAP-6. In a series of experiments, the V_{shape} value at a temperature of 37°C and a TRAP-6 concentration of 1000 nM is taken as 100%; Б – the dependence of the initial V_{agg} on the concentration of TRAP-6. The V_{agg} value at a temperature of 37°C and a TRAP-6 concentration of 5000 nM is taken as 100%

**Рисунок 6**

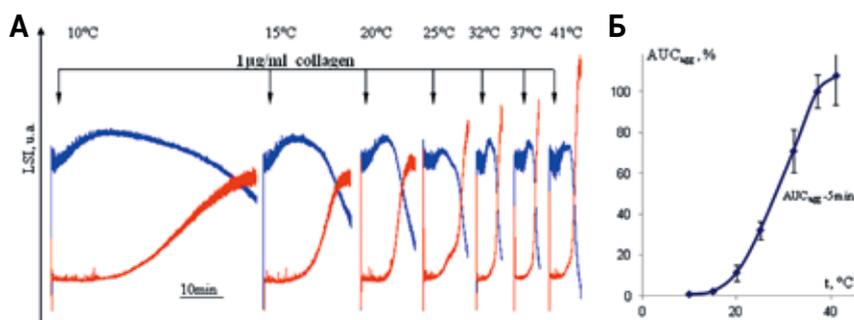
Зависимость агрегации тромбоцитов, индуцированных 1 мкг/мл коллагена, от температуры 10, 15, 20, 25, 32, 37 и 41°C

А – динамика изменения LSI(1) и LSI(12). Масштаб графика для LSI(12) увеличен в 50 раз; Б – зависимость степени агрегации, оцененной по AUC_{agg} за 5 мин, от температуры. В серии экспериментов за 100% принимается значение AUC_{agg} при температуре 37°C

Figure 6

The dependence of platelet aggregation induced by 1 µg/mL of collagen on the temperature: 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C, 32 °C, 37 °C, 41°C

А – changes in LSI(1) and LSI(12). The scale of the plot for LSI(12) is increased 50-fold; Б – the dependence of the degree of aggregation, measured by AUC_{agg} over 5 minutes, on the temperature. The AUC_{agg} value at a temperature of 37°C is taken as 100%



вируют рецепторы, связанные с G-белками (GPCR), активирует иммуноглобулиновый рецептор GPVI (гликопротеин VI). Трансформация тромбоцитов при действии коллагена происходит значительно медленнее, чем при действии других агонистов (ADP, тромбоксан, тромбин) (для сравнения: рисунки 1Б, 3Б, 4 и рисунок 6А). В тромбоцитах, активированных коллагеном, замедляется скорость как начальной активации, так и агрегации, поэтому показатель AUC_{agg} рассчитывали за 5 мин. При действии коллагена наблюдается характерное для ферментативных реакций увеличение скорости как реакции shape change, так и агрегации при повышении температуры от 15 до 41°C (рисунок 6Б). В отличие от других агонистов при активации коллагеном не наблюдается процесса дезагрегации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Образование тромба с участием тромбоцитов – комплексный многостадийный процесс, состоящий из множества согласованных реакций, протекающих как в плазме, так и на поверхности и внутри клетки. Реализация каскада реакций гемостаза приводит к усиливающемуся вовлечению клеток в образование тромба на поврежденной поверхности сосуда. Температура неоднозначным образом воздействует на активирующие и ингибирующие обратимые реакции гемостаза. Однако в литературе нет консенсуса в вопросе о действии температуры на активность тромбоцитов, что может быть связано с применением различных агонистов и методов исследования. В представленной работе мы сравнили

влияние температуры на тромбоциты, активированные GPCR (ADP, тромбоксан, тромбин) и коллагеновым рецептором GPVI. Мы показали, что при активации GPCR повышение температуры однозначно ускоряет реакцию shape change, тогда как на стадии агрегации влияние температуры далеко не так определено. При низких дозах агонистов, вызывающих быструю реакцию shape change, повышение температуры замедляет агрегацию и усиливает процесс дезагрегации. При нормальной температуре (37°C) и гипертермии (41°C) уже активированные тромбоциты (реакция shape change реализована), не получившие достаточного стимула (низкая доза агониста), либо не агрегируют, либо быстро дезагрегируют. В то же время при гипотермии клетки агрегируют уже при низких дозах агониста. Иная картина наблюдается при активации рецептора GPVI коллагеном. При этом повышение температуры однозначно приводит к ускорению активации и агрегации тромбо-

цитов. Таким образом, результаты проделанной работы показали, что влияние температуры на процессы активации тромбоцитов зависит как от дозы агонистов, так и от природы активируемых рецепторов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда, проект №23-15-00142.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Dobrylko I.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5063-3533>

Volkova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2978-5118>

Gerda B.A. ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-6096-0350>

Mikhailova D.M. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-3061-4420>

Gambaryan S.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1470-0791>

Mindukshev I.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5978-2105>

Литература

- Gader A., Al-Mashhadani S., Al-Harthy S. Direct activation of platelets by heat is the possible trigger of the coagulopathy of heat stroke. *Br J Haematol* 1990; 74: 86–92. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1990.00082.x-i1
- Kheirbek T., Kochanek A.R., Alam H.B. Hypothermia in bleeding trauma: A friend or a foe? *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2009; 17: 1–15. DOI: 10.1186/1757-7241-17-65
- Martini W.Z., Cortez D.S., Dubick M.A., Park M.S., Holcomb J.B. Thrombelastography is Better Than PT, aPTT, and Activated Clotting Time in Detecting Clinically Relevant Clotting Abnormalities After Hypothermia, Hemorrhagic Shock and Resuscitation in Pigs. *J Trauma Acute Care Surg* 2008; 65: 535–43. DOI: 10.1097/TA.0b013e31818379a6
- Rohrer M.J., Natale A.M. Effect of hypothermia on the coagulation cascade. *Crit Care Med* 1992; 20: 1402–5. DOI: 10.1097/00003246-199210000-00007
- van Poucke S., Stevens K., Marcus A.E., Lance M.D. Hypothermia: Effects on platelet function and hemostasis. *Thromb J* 2014; 12: 31. DOI: 10.1186/s12959-014-0031-z
- Dranichnikov P., Mahteme H., Cashin P.H., Graf W. Coagulopathy and Venous Thromboembolic Events Following Cytoreductive Surgery and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 2021; 28: 7772–82. DOI: 10.1245/s10434-021-09941-9
- Tuovila M., Erkinaro T., Takala H., Savolainen E.-R., Laurila P., Ohtonen P., et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy enhances blood coagulation perioperatively evaluated by thromboelastography: A pilot study. *Int J Hypertherm* 2020; 37: 293–300. DOI: 10.1080/02656736.2020.1742389
- Scharbert G., Kalb M., Marschalek C., Kozek-Langenecker S.A. The Effects of Test Temperature and Storage Temperature on Platelet Aggregation: A Whole Blood *In Vitro* Study. *Anesthesia Analg* 2006; 102: 1280–4. DOI: 10.1213/01.ane.0000199399.04496.6d
- Straub A., Krajewski S., Hohmann J.D., Westein E., Jia F., Bassler N., et al. Evidence of Platelet Activation at Medically Used Hypothermia and Mechanistic Data Indicating ADP as a Key Mediator and Therapeutic Target. *Arter Thromb Vasc Biol* 2011; 31 (7): 1607–16. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.226373
- Straub A., Breuer M., Wendel H.P., Peter K., Dietz K., Ziemer G. Critical temperature ranges of hypothermia-induced platelet activation: Possible implications for cooling patients in cardiac surgery. *Thromb Haemost* 2007; 97 (04): 608–16. DOI: 10.1160/TH06-10-0563
- Faraday N., Rosenfeld B. *In Vitro* Hypothermia Enhances Platelet GPIIb-IIIa Activation and P-Selectin Expression. *Anesthesiology* 1998; 88: 1579–1585. DOI: 10.1097/00005542-199806000-00022
- Högberg C., Erlinge D., Braun O. Mild hypothermia does not attenuate platelet aggregation and may even increase ADP stimulated platelet aggregation after clopidogrel treatment. *Thromb J* 2009; 7: 2. DOI: 10.1186/1477-9560-7-2
- Maurer-Spurej E., Pfeiler G., Maurer N., Lindner H., Glatzer O., Devine D.V. Room Temperature Activates Human Blood Platelets. *Lab Invest* 2001; 81: 581–92. DOI: 10.1038/labinvest.3780267
- Scharbert G., Kalb M.L., Essmeister R., Kozek-Langenecker S.A. Mild and moderate hypothermia increases platelet aggregation induced by various agonists: A whole blood *in vitro* study. *Platelets* 2010; 21: 44–8. DOI: 10.3109/09537100903420269
- Xavier R.G., White A.E., Fox S.C., Wilcox R.G., Heptinstall S. Enhanced platelet aggregation and activation under conditions of hypothermia. *Thromb Haemost* 2007; 98: 1266–75. DOI: 10.1160/TH07-03-0189
- Borgman M.A., Zaar M., Aden J.K., Schlader Z.J., Gagnon D., Rivas E., et al. Hemostatic responses to exercise, dehydration, and simulated bleeding in heat-stressed humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2019; 316: R145–56. DOI: 10.1152/ajpregu.00223.2018
- Van Poucke S., Huskens D., van der Speeten K., Roest M., Lauweirens B., Zheng M.-H., et al. Thrombin generation and platelet activation in cytoreductive surgery combined with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy – A prospective cohort study. *PLoS One* 2018; 13 (6): e0193657. DOI: 10.1371/journal.pone.0193657
- Krajewski S., Kurz J., Geisler T., Peter K., Wendel H.P., Straub A. Combined blockade of ADP receptors and PI3-kinase p110beta fully prevents platelet and leukocyte activation during hypothermic extracorporeal circulation. *PLoS One* 2012; 7 (6): e38455. DOI: 10.1371/journal.pone.0038455
- Mindukshev I., Fock E., Dobrylko I., Sudnitsyna J., Gambaryan S., Pan-telev M. Platelet Hemostasis Reactions at Different Temperatures Correlate with Intracellular Calcium Concentration. *Int J Mol Sci* 2022; 23 (18): 10667. DOI: 10.3390/ijms231810667

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-99-107

Статистически значимое улучшение контроля гемофилии А: ретроспективный анализ эффективности и безопасности эмицизумаба у детей с тяжелой и ингибиторной формой гемофилии А

В.Ю. Петров, И.Н. Лаврентьева, В.В. Вдовин, П.В. Свирин

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

Гемофилия А представляет собой серьезную проблему, особенно ее тяжелые и ингибиторные формы, приводя к тяжелым кровотечениям и осложнениям. Важность изучения эффективности и безопасности новых лечебных подходов, в частности применения эмицизумаба, неоспорима для улучшения качества жизни пациентов. Цель: оценить эффективность и безопасность эмицизумаба в профилактике кровотечений у детей с тяжелой и ингибиторной формами гемофилии А. Данное исследование не требовало одобрения этическим комитетом, так как анализировались обобщенные ретроспективные данные рутинной клинической практики. Все данные были деперсонифицированы. Исследование проводилось на основе ретроспективного анализа медицинских записей детей с диагнозом гемофилии А, получавших лечение в Морозовской ДГКБ за период с 2006 по 2022 г. Изучение охватывает 2 когорты пациентов: с тяжелой и ингибиторной формами гемофилии А. Анализ включал оценку частоты кровотечений, гемартрозов, госпитализаций и нежелательных реакций. В анализ вошли данные 45 пациентов с гемофилией А, проходивших лечение эмицизумабом с 2018 по 2022 г. Из них 30 детей имели тяжелую форму, а 15 – ингибиторную форму гемофилии А. Средний период наблюдения для тяжелой формы составил 17 мес, варьируя от 12 до 23 мес, для ингибиторной формы – 32 мес, с диапазоном от 11 до 51 мес. В группе пациентов с тяжелой формой гемофилии А наблюдалось статистически значимое ($p < 0,001$) снижение частоты всех видов кровотечений: 96,7% детей не имели ни одного эпизода гемартроза во время терапии эмицизумабом против 46,7% пациентов на предшествующей терапии концентратами FVIII. Ни одного спонтанного гемартроза не зарегистрировано. Аналогичные результаты были зафиксированы и в группе с ингибиторной формой гемофилии А: 93,3% детей не имели эпизодов гемартроза на фоне применения эмицизумаба против 13,3% во время предшествующей терапии препаратами шунтирующего действия. За все время наблюдения в когорте пациентов с тяжелой формой гемофилии А произошло 3 кровотечения, в когорте детей с ингибиторной формой – 1 кровотечение. До применения эмицизумаба из 391 эпизода кровотечений, случившихся у 45 детей, 218 были спонтанными. Нежелательные явления зарегистрированы у 7 пациентов, они проявлялись гиперемией в месте введения на первую или первую и вторую инъекции эмицизумаба и проходили самостоятельно. Других нежелательных явлений не было; 90% детей с тяжелой формой гемофилии А и 73,3% детей с ингибиторной формой не отмечали каких-либо нежелательных явлений при применении эмицизумаба. Эмицизумаб демонстрирует высокую эффективность и безопасность в лечении детей с тяжелой формой гемофилии А, как с ингибиторами, так и без них. Препарат значительно снижает частоту кровотечений и улучшает качество жизни пациентов.

Ключевые слова: гемофилия А, эмицизумаб, тяжелая форма, ингибиторная форма, профилактика, ретроспективный анализ, клиническая эффективность, безопасность

Петров В.Ю. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 99–107.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-99-107

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 29.12.2023

Принята к печати 16.02.2024



EDN: LYVITD

Контактная информация:Петров Виктор Юрьевич,
д-р мед. наук, врач-гематолог отделения гематологии ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы»
Адрес: 119049, Москва,
4-й Добрынинский переулок, 1/9
E-mail: petrovhemcentr@yandex.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 29.12.2023

Accepted 16.02.2024

Statistically significant improvement in hemophilia A control: a retrospective analysis of the effectiveness and safety of emicizumab in children with severe and inhibitor forms of hemophilia A

V.Yu. Petrov, I.N. Lavrentyeva, V.V. Vdovin, P.V. Svirin

*The Morozov Children's City Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow***Correspondence:**

Victor Yu. Petrov,

Dr. Med. Sci., a hematologist of the Department of Hematology at the Morozov Children's City Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow
Address: 1/9 4th Dobryninsky lane, 119049 Moscow, Russia
E-mail: petrovhemcentr@yandex.ru

Hemophilia A presents a serious problem, especially in its severe and inhibitor forms, leading to severe bleeding and complications. The importance of studying the effectiveness and safety of new treatment approaches, particularly emicizumab, is undeniable for improving the quality of life of patients. Aim: to evaluate the effectiveness and safety of emicizumab in the prevention of bleeding in children with severe and inhibitor forms of hemophilia A. Ethical approval was not required since the study only involved the use of generalized retrospective data obtained during routine clinical practice. All data were depersonalized. A retrospective analysis of medical records of 45 children treated at the Morozov Children's Hospital from 2006 to 2022 was carried out. The study included two cohorts: those with severe hemophilia A and those with inhibitor forms. The analysis included an assessment of the frequency of bleeding and hemarthrosis episodes, hospital admissions, and adverse reactions. The analysis included data from 45 patients with hemophilia A who underwent treatment with emicizumab from 2018 to 2022. Of these, 30 children had a severe form of hemophilia A, and 15 had an inhibitor form. The median follow-up period for a severe form was 17 months, ranging from 12 to 23 months, while for an inhibitor form, it was 32 months, with a range of 11 to 51 months. In the group with severe hemophilia A, a statistically significant ($p < 0.001$) reduction in the frequency of all types of bleeding was observed: 96.7% of children had no episodes of hemarthrosis during emicizumab therapy, compared to 46.7% of patients previously treated with FVIII concentrates. No spontaneous hemarthrosis was registered. Similar results were observed in the group with an inhibitor form of hemophilia A: 93.3% of children had no hemarthrosis episodes while using emicizumab compared to 13.3% during previous treatment with bypassing agents. Over the entire follow-up period, there were 3 bleedings in the cohort of children with severe hemophilia A and 1 bleeding in the cohort of children with inhibitor hemophilia A. Prior to the use of emicizumab, out of 391 bleeding episodes that occurred in 45 children, 218 were spontaneous. Adverse events were recorded in 7 children, manifesting as erythema at the injection site after the first or first and second emicizumab injections and resolving spontaneously. There were no other adverse events; 90% of children with severe hemophilia A and 73.3% of children with inhibitor hemophilia A did not report any adverse events during the use of emicizumab. Emicizumab demonstrates high effectiveness and safety in the treatment of children with severe hemophilia A, both with and without inhibitors. The drug significantly reduces the frequency of bleeding episodes and improves the quality of life of patients.

Key words: hemophilia A, emicizumab, severe form, inhibitor form, prophylaxis, retrospective analysis, clinical effectiveness, safety

Petrov V.Yu., et al. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2024; 23 (1): 99–107.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-99-107

Гемофилия А представляет собой наследственное нарушение свертывания крови, вызванное дефицитом или отсутствием фактора свертывания крови VIII (FVIII). Особенно серьезной проблемой становятся ее фенотипически тяжелые формы и случаи, когда у пациентов образуются ингибиторы к FVIII. Эти состояния сопровождаются тяжелыми продолжительными кровотечениями, гемартрозами и ортопедическими осложнениями, что не только ухудшает качество жизни пациента и его семьи, но и может влиять на социальную адаптацию детей, возможность посещения учебных учреждений и выбор профессии в будущем.

В этом контексте исследование, направленное на оценку эффективности и безопасности эмицизумаба в лечении гемофилии А у детей, становится крайне важным.

Несмотря на уже существующие данные из обширной программы клинических исследований III фазы [1–7], оценка реальной клинической практики не менее важна для врачей, поскольку она позволяет понять, как новые подходы к лечению внедряются в повседневную медицинскую практику и как они сказываются на результатах терапии и качестве жизни пациентов. Такой анализ также способствует выявлению факторов, влияющих на результаты лечения в реальных условиях, и может подчеркнуть, какие преимущества новые методы могут принести, снижая бремя болезни для пациентов.

Цель данного анализа – оценка эффективности и безопасности профилактического применения эмицизумаба у детей с тяжелой и ингибиторной формами гемофилии А в реальной клинической практике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты

Исследование проводилось на основе ретроспективного анализа медицинских записей детей с гемофилией А, получавших лечение в Морозовской ДГКБ за период с 2006 по 2022 г. Для включения в исследование участники должны были иметь подтвержденный диагноз врожденной гемофилии А тяжелой (активность FVIII менее 1%) или ингибиторной (титр ингибитора FVIII более 0,6 БЕ) формы, получать терапию эмицизумабом не менее 6 мес и иметь доступные медицинские записи с подробными данными об их состоянии и лечении.

Материалы

Медицинские записи участников исследования, включающие данные об установленном диагнозе гемофилии А, истории лечения, частоте и локализации геморрагических проявлений и результатах лабораторных исследований.

Методы

Был проведен ретроспективный анализ данных медицинской документации детей с разделением на

2 когорты: пациенты с тяжелой формой гемофилии А (врожденный дефицит FVIII менее 1% активности) и дети с осложненной ингибиторной формой гемофилии А. Всем пациентам был назначен препарат эмицизумаб (Гемлибра, Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд., Швейцария) в качестве профилактической терапии гемофилии А. В ходе исследования анализировались данные о возрасте пациентов, возрасте установления диагноза, возрасте обнаружения ингибитора для соответствующей когорты, выраженность клинической картины и вид предшествующей терапии. За критерии оценки эффективности были приняты медиана годовой частоты всех кровотечений, медиана годовой частоты спонтанных кровотечений, медиана годовой частоты гемартрозов, медиана годовой частоты кровотечений, потребовавших терапии, частота госпитализаций и количество дней госпитализаций. Безопасность терапии оценивалась на основании записей в медицинской документации о нежелательных реакциях.

Статистический анализ

При анализе количественных данных проведено предварительное тестирование переменной на нормальность распределения с помощью теста Шапиро–Уилка. В случае нормального распределения параметр представляется в виде среднего значения и его стандартного отклонения, при отклонении от нормального распределения параметр представляется в виде медианы (Q1; Q3). При сравнении параметров до/после терапии в случае нормального распределения используется парный t-тест Стьюдента, в случае логарифмического нормального распределения t-тест применяется к логарифмическому преобразованию исходного параметра. При иных распределениях применяется W-критерий Вилкоксона для связанных выборок.

Этические соображения

Данное исследование не требовало одобрения этическим комитетом, так как анализировались обобщенные ретроспективные данные рутинной клинической практики. Все данные были деперсонифицированы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены данные 45 пациентов, получавших терапию эмицизумабом в период с 2018 по 2022 г. Из них 30 пациентов имели тяжелую форму гемофилии А и у 15 детей установлен диагноз осложненной гемофилии А. Таким образом, 33% когорты имеют осложненную ингибиторную форму гемофилии А, что в целом сопоставимо с общей когортой всех пациентов с гемофилией А как по

нашим, так и по мировым данным [8, 9]. Далее результаты по каждой когорте будут представлены отдельно.

Результаты применения эмицизумаба в когорте пациентов с тяжелой формой гемофилии А

В ходе проведенного исследования был выполнен демографический анализ когорты детей с тяжелой формой гемофилии А. Всего в исследование вошли данные 30 пациентов. Медиана возраста участников на момент сбора данных составила 5,7 (2–20) года. Медиана возраста установления диагноза составила 6,5 (0–75) месяцев, что указывает на то, что заболевание у большинства детей было выявлено на первом году жизни. Активность FVIII при первичном определении составила в среднем 0,63% (0,1–0,9%). Важно отметить, что большинство (93,3%) детей в этой когорте не имели отягощенного семейного анамнеза гемофилии А. Это может быть объяснено как появлением случайных мутаций, так и недостаточностью анамнестических данных. У 13,3% детей в исследуемой группе были зарегистрированы жизнеугрожающие кровотечения в анамнезе. Из них 6,7% пациентов имели кровотечения с локализацией в центральной нервной системе и 6,7% – в желудочно-кишечном тракте.

Анализ эффективности предшествующей терапии концентратами FVIII

В исследуемой группе 76,7% пациентов получали препараты FVIII в профилактическом режиме и 23,3% – терапию «по требованию». Медиана годовой частоты всех кровотечений составила 2,8 (0–6) эпизода и 2,7 (0–6) эпизода кровотечений в год требовали дополнительного введения препаратов FVIII. Спонтанный характер имели 26,7% кровотечений, в том числе у 9,9% пациентов их число составило 3 и более в год. У 53,3% пациентов случился 1 эпизод гемартроза и более. Это привело к формированию суставов-мишеней у 14,8% детей. Для остановки кровотечения были госпитализированы 37,9% пациентов, среднее количество дней госпитализации составило 2,75 (0–14) и 31% детей провели в стационаре более 6 дней.

Анализ эффективности применения эмицизумаба для профилактики эпизодов кровотечений в когорте пациентов с тяжелой формой гемофилии А

Период наблюдения у детей с тяжелой неингибиторной формой гемофилии А, принимающих эмицизумаб, составил 17 (12–23) мес. Для оценки эффективности данного препарата проводилось измерение медианного изменения параметров эффективности за период наблюдения на терапии эмицизумабом по отношению к аналогичным параметрам в течение 12 мес на предшествующей терапии.

Применение эмицизумаба в нашей когорте детей с тяжелой гемофилией А без ингибиторов к FVIII привело к статистически значимому снижению медианы частот всех кровотечений, спонтанных кровотечений, гемартрозов и кровотечений любой локализации, требующих терапии. Это ожидаемо привело к снижению как числа госпитализаций, так и общей продолжительности госпитализаций (таблица 1).

При оценке показателя «Частота всех кровотечений» обнаружено, что 90% пациентов из нашей когорты не имели эпизодов кровотечений на фоне применения эмицизумаба против 3,3% на предыдущей терапии концентратами FVIII; 46,7% детей имели от 3 до 6 эпизодов кровотечений в течение года на предшествующей терапии FVIII, в то время как ни у одного ребенка не зарегистрировано более 2 эпизодов кровотечений за весь период наблюдения на терапии эмицизумабом (рисунки 1). Большинство кровотечений у пациентов после смены терапии на эмицизумаб носили травматический характер. Эпизод спонтанного кровотечения случился у одного ребенка из всей когорты.

При оценке частоты гемартрозов также обращает на себя внимание значимое снижение их числа на фоне применения эмицизумаба: 96,7% детей не имели ни одного эпизода гемартроза во время терапии эмицизумабом против 46,7% пациентов на предшествующей терапии препаратами концентрата FVIII (рисунки 2). Все эпизоды гемартрозов у пациентов на фоне применения эмицизумаба носили посттравматический характер.

Результаты исследования в когорте пациентов с осложненной ингибиторной формой гемофилии А

Всего проведен анализ данных 15 детей с ингибиторной формой гемофилии А. Медиана возраста

участников на момент сбора данных составила 8,08 (3,5–18) года. Медиана возраста установления диагноза составила 7 (0–36) месяцев. Медиана активности FVIII при первичном определении составила в среднем 0,8% (0–1,3%), а медиана титра ингибитора при первичном обнаружении – 8,3 БЕ с широким разбросом значений от 1,8 до 118,6 БЕ. В среднем проходило 12,7 мес терапии концентратами FVIII до первого обнаружения ингибитора, у 1 пациента ингибитор был выявлен после единичного введения концентрата FVIII и еще у 3 – в период от 2 до 5 мес. Медиана возраста трансформации гемофилии А в осложненную ингибиторную форму в наблюдаемой когорте составила 16,5 (5–63) мес. Как и в когорте детей с тяжелой неингибиторной формой, 93,3% детей не имели отягощенного семейного анамнеза гемофилии А. У 3 (20%) из 15 детей были зарегистрированы жизнеугрожающие кровотечения (забрюшинные гематомы) в анамнезе.

Анализ эффективности предшествующей терапии препаратами шунтирующего действия

Доля пациентов, которые получали препараты шунтирующего действия (ПШД) в профилактическом режиме, была меньше, чем в когорте детей с тяжелой гемофилией А без ингибиторов и составила 60% против 76,7%. Из-за короткого периода полувыведения ПШД их профилактическое введение создает высокую лечебную нагрузку как на ребенка, так и на семью. У 5 (33,3%) из 15 детей были предприняты попытки проведения терапии индукции иммунной толерантности с отрицательным результатом: ни у одного пациента не достигнуто целевого снижения титра ингибитора, в 2 случаях отмечено нарастание титра ингибитора к FVIII в 2,4 и 5,3 раза. У 53,3%

Таблица 1

Снижение медианы показателей эффективности профилактической терапии гемофилии А при применении эмицизумаба в сравнении с предшествующей терапией концентратами FVIII

Table 1

Reduction in the median values of the effectiveness parameters of hemophilia A prophylactic treatment with the use of emicizumab compared to previous FVIII therapy

Параметр Parameter	Изменение медианы показателя* Median change*	95% доверительный интервал 95% confidence interval	p-значение** p-value**
Количество всех кровотечений All bleeding episodes	-3	(-3,5; -2)	< 0,001
Количество спонтанных кровотечений Spontaneous bleeding episodes	-2	(-3,5; -1)	0,013
Количество гемартрозов Hemarthrosis episodes	-2	(-2,5; -1,5)	< 0,001
Количество кровотечений, потребовавших терапии Treated bleeding	-2	(-3; -2)	< 0,001
Общее количество дней всех госпитализаций Total number of days at hospital	-7	(-10; -5)	0,004
Количество госпитализаций по факту кровотечения Number of hospital admissions due to bleeding	-1	(-1; -1)	0,002

Примечание. Здесь и в таблице 2: * – отрицательное значение медианного изменения говорит о снижении частоты кровотечений и преимуществе исследуемого терапевтического подхода в сравнении с историческим контролем (применение предшествующей терапии), положительное значение медианного изменения – о повышении частоты кровотечений и преимуществе терапии, применяемой в историческом контроле в сравнении с исследуемым подходом; ** – изменение считается статистически значимым при $p < 0,05$.

Note. Here and in table 2: * – a negative median change value indicates a reduction in the frequency of bleeding episodes and an advantage of the investigational therapeutic approach compared to the historical control (previous treatment), a positive median change value indicates an increase in the frequency of bleeding episodes and an advantage of the therapy used in a historical control group compared to the investigational approach; ** – changes are considered statistically significant at $p < 0,05$.

Рисунок 1

Частота всех кровотечений в когорте детей с тяжелой формой гемофилии А на фоне терапии концентратами FVIII (А) и эмицизумабом (Б)

Figure 1

Frequency of all bleeding episodes in the cohort of children with severe hemophilia A during treatment with FVIII concentrates (А) and emicizumab (Б)

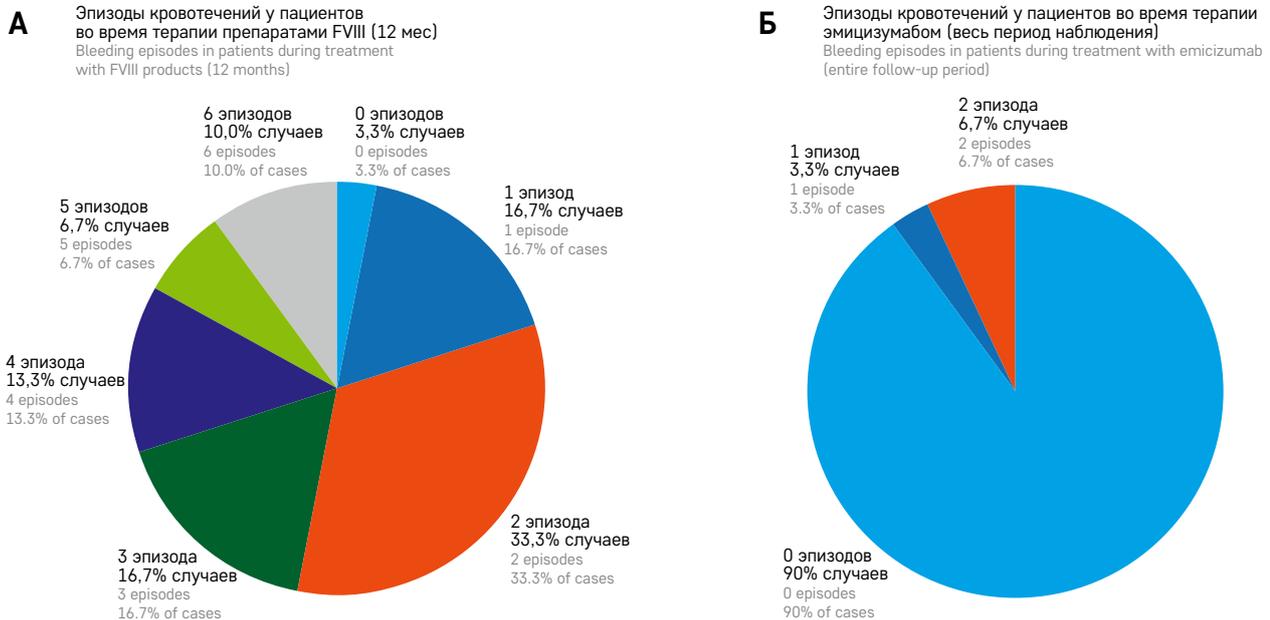
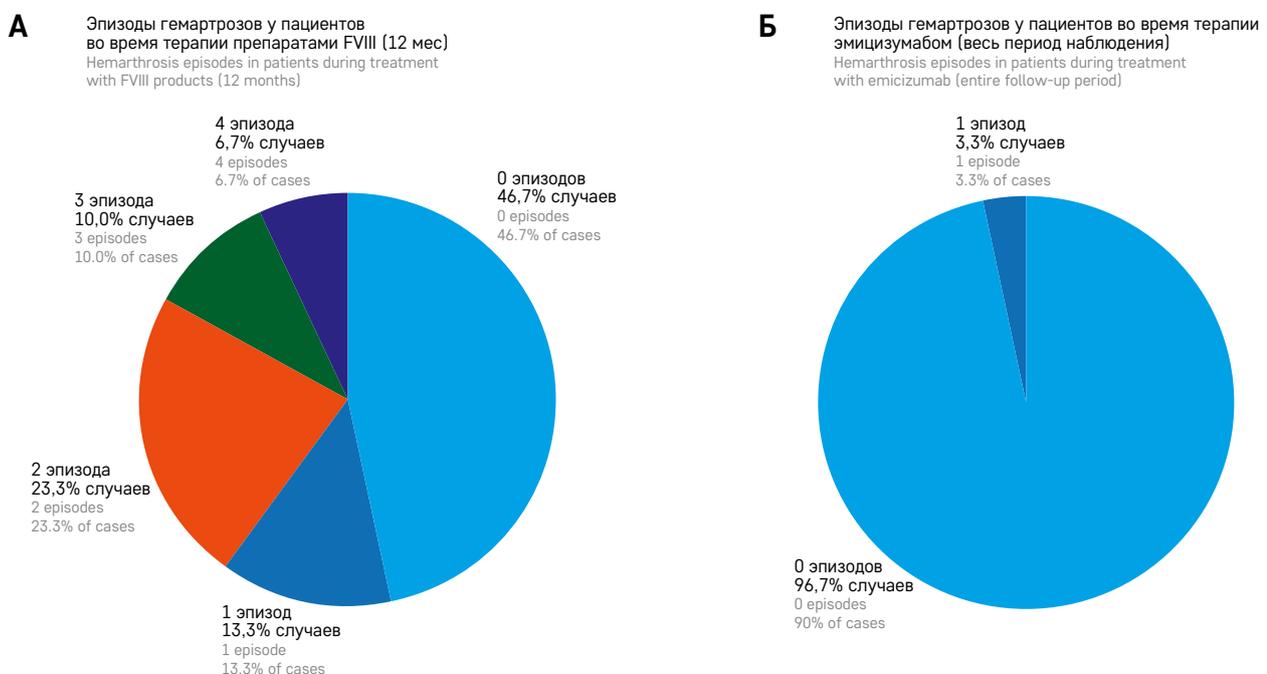


Рисунок 2

Частота гемартрозов в когорте детей с тяжелой формой гемофилии А на фоне терапии концентратами FVIII (А) и эмицизумабом (Б)

Figure 2

Frequency of hemarthroses in the cohort of children with severe hemophilia A during treatment with FVIII concentrates (А) and emicizumab (Б)



пациентов для купирования кровотечений требовалось применение комбинации антиингибиторного коагуляционного комплекса и эптакга альфа активированного, так как монотерапия ни одним из ПШД не приводила хоть к сколько-нибудь удовлетворительному контролю кровотечений.

Несмотря на интенсивную гемостатическую терапию, медиана годовой частоты всех кровотечений в когорте детей с ингибиторной формой гемофилии А составила 19 (0–44) эпизодов в год и все кровотечения требовали дополнительного введения ПШД для их остановки. Медиана спонтанных кровотечений

составила 10 (0–36) эпизодов в год, в том числе у 8 из 15 пациентов их число составило 10 и более в год. Медиана годовой частоты гемартрозов составила 4 (0–33) эпизода в год. У 73,4% пациентов случилось 2 эпизода гемартроза и более в год и 53,3% детей перенесли 4 гемартроза или более в течение года. У 35,7% пациентов сформированы суставы-мишени и у 14,3% из них было по 2 сустава-мишени.

Среднее число госпитализаций за год на терапии ПШД в группе пациентов с ингибиторной формой гемофилии А незначительно отличается от аналогичного параметра в группе детей с тяжелой формой без ингибитора к FVIII и составило 3,3 (0–25) эпизода. Однако обращает на себя внимание большая продолжительность пребывания в стационаре: в среднем 27,63 (0–225) дня провел каждый ребенок с ингибиторной формой гемофилии А в стационаре, что говорит о более сложном и длительном купировании кровотечений при развитии ингибиторной формы заболевания.

Анализ эффективности применения эмицизумаба для профилактики эпизодов кровотечений в когорте пациентов с ингибиторной формой гемофилии А

Период наблюдения детей с тяжелой ингибиторной формой гемофилии А на терапии эмицизумабом составил 32 (11–51) мес. Для оценки эффективности эмицизумаба проводилось измерение медианного изменения параметров эффективности за период наблюдения на терапии данным препаратом по отношению к аналогичным параметрам в течение 12 мес на предшествующей терапии. Применение эмицизумаба в когорте детей с ингибиторной формой гемофилии А так же, как и в когорте больных с тяжелой формой гемофилии А без ингибитора, привело к статистически значимому снижению медианы частот всех кровотечений, спонтанных кровотечений, гемартрозов и крово-

течений любой локализации, требующих терапии, и снижению частоты и продолжительности госпитализаций (таблица 2).

При оценке показателя «Частота всех кровотечений» обнаружено, что только у 2 из 15 пациентов случилось кровотечение в период применения эмицизумаба. У одного пациента кровотечение было посттравматическим и развилось в результате падения и перелома костей предплечья, а у другого – вследствие одномоментного удаления 2 зубов. Оба случая потребовали однодневной терапии эптакотом альфа активированным. Ни одного спонтанного кровотечения в когорте детей с ингибиторной формой гемофилии А зарегистрировано не было.

За все время наблюдения был только 1 эпизод гемартроза в когорте детей с ингибиторной гемофилией А, развившийся в результате перелома кости предплечья. Таким образом, у 93,3% детей не было ни одного эпизода гемартроза и у 100% пациентов не было спонтанных гемартрозов в период профилактического применения эмицизумаба. Во время предшествующей терапии ПШД доля детей без гемартрозов составила 13,3% (рисунок 3).

Также обращает на себя внимание снижение кумулятивной дозы ПШД и продолжительности терапии кровотечений: у одного и того же пациента был эпизод посттравматического гемартроза на фоне профилактического применения ПШД и через год на фоне применения эмицизумаба. На фоне применения ПШД для купирования гемартроза потребовалось дополнительно ввести антиингибиторный коагулянтный комплекс в кумулятивной дозе 500 Ед/кг и эптакот альфа активированный в кумулятивной дозе 600 мг/кг, общая продолжительность терапии гемартроза составила 5 дней. На фоне применения эмицизумаба при развитии посттравматического гемартроза у этого же ребенка было введено 90 мг/кг эптакота альфа активированного и

Таблица 2

Снижение медианы показателей эффективности профилактической терапии гемофилии А при применении эмицизумаба в сравнении с предшествующей терапией ПШД

Table 2

Reduction in the median values of the effectiveness parameters of hemophilia A prophylactic treatment with the use of emicizumab compared to previous bypassing agent therapy

Параметр Parameter	Медианное изменение* Median change*	95% доверительный интервал 95% confidence interval	p-значение** p-value**
Количество всех кровотечений All bleeding episodes	–19	(–30; –10)	< 0,001
Количество спонтанных кровотечений Spontaneous bleeding episodes	–14,5	(–22,5; –8)	0,002
Количество гемартрозов Hemarthrosis episodes	–4	(–2; –5)	< 0,001
Количество кровотечений, потребовавших дополнительного введения ПШД Bleeding episodes which required additional administration of bypassing agents	–19	(–30; –10)	< 0,001
Общее количество дней всех госпитализаций Total number of days at hospital	–18	(–21; –5)	< 0,001
Количество госпитализаций по факту кровотечения Number of hospital admissions due to bleeding	–2	(–3; –1)	< 0,001

продолжительность терапии составила 1 день, после чего гемартроз был купирован.

Анализ безопасности применения эмицизумаба для профилактики эпизодов кровотечений в когорте детей с тяжелой формой гемофилии А без ингибиторов и ингибиторной формой гемофилии А

Оценка вероятности развития нежелательного явления при применении эмицизумаба в когорте детей с тяжелой формой гемофилии А составила 0,1 (95% доверительный интервал 0,021–0,256) и 0,267 (95% доверительный интервал 0,078–0,551) в когорте детей с ингибиторной формой гемофилии А. Относительно большая вероятность развития нежелательного явления в когорте детей с ингибиторной формой гемофилии А может быть объяснена меньшей выборкой в этой группе.

Единственным нежелательным явлением, зарегистрированным при применении эмицизумаба в нашей когорте, была реакция в месте введения на первое или 2 первых введения эмицизумаба, не потребовавшая отмены препарата или дополнительной терапии. Серьезных нежелательных явлений, тромботических событий или явлений, потребовавших отмены/модификации режима введения эмицизумаба не зарегистрировано: 90% детей с тяжелой формой гемофилии А и 73,3% пациентов с ингибиторной формой гемофилии А не отмечали каких-либо нежелательных явлений при применении эмицизумаба (рисунки 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В этом исследовании мы проанализировали данные по применению эмицизумаба у детей с тяжелой формой гемофилии А без ингибиторов к FVIII и с ингибиторной формой гемофилии А, накопленные за период более 4 лет. Ограничением данной работы является ее ретроспективный характер и тот факт, что все пациенты наблюдались в одном медицинском центре, принятые в нашем учреждении клинические практики могли повлиять на исходы и результаты терапии.

До начала терапии эмицизумабом как в когорте пациентов с тяжелой формой гемофилии А, так и у детей с ингибиторной формой большинство получали профилактическое лечение: 76,7% и 60% соответственно. Среди пациентов с ингибиторной формой 53,3% детей получали сочетанную терапию из комбинации ПШД. Тем не менее, несмотря на проводимую профилактическую терапию, частота кровотечений, потребовавших терапии, в группе детей с тяжелой формой гемофилии А составила 2,7 эпизода в год, у пациентов с ингибиторной формой 19 эпизодов в год требовали дополнительного введения ПШД.

Один эпизод гемартроза или более в течение года перенесли 53,3% детей с тяжелой формой гемофилии А, 73,4% пациентов с ингибиторной формой гемофилии А перенесли 2 гемартроза и более в год. Недостаточный контроль кровотечений привел к формированию суставов-мишеней у 14,3% и 35,7% в группах детей с тяжелой формой гемофилии А и ингибиторной формой заболевания соответственно.

Жизнеугрожающие кровотечения зарегистрированы у 13,3% детей с тяжелой формой гемофилии А и у 20% – с ингибиторной формой заболевания.

Все это говорит о недостаточном контроле над заболеванием на фоне применения концентратов FVIII и ПШД и высоком риске артропатии, инвалидизации и социальной дезадаптации детей по мере нарастания осложнений гемофилии.

Результаты эффективности и безопасности эмицизумаба в нашей когорте детей были сопоставимы с результатами, продемонстрированными в исследованиях HAVEN 1–4 [1–4], HAVEN 7 [5] и в работе П.А. Жаркова и соавт. [10].

На фоне применения эмицизумаба статистически значимо снизилась частота всех кровотечений, спонтанных кровотечений и гемартрозов у детей в нашей когорте, независимо от наличия ингибитора к FVIII. За период наблюдения спонтанное кровотечение случилось только у 1 из 45 наблюдаемых детей, остальные 6 кровотечений имели посттравматический характер или возникли после ятрогенных вмешательств. До применения эмицизумаба из 391 эпизода кровотечений, случившихся у 45 детей, 218 были спонтанными.

После смены профилактической терапии на подкожное введение эмицизумаба 96,7% детей с тяжелой гемофилией А и 93,3% пациентов с ингибиторной формой заболевания не перенесли ни одного эпизода гемартрозов за период наблюдения и 2 эпизода гемартрозов, которые случились в нашей когорте детей, имели посттравматический характер. Кроме 2 посттравматических гемартрозов других суставных кровотечений зарегистрировано не было.

При развитии гемартроза снизилась кумулятивная доза эптакога альфа активированного, необходимая для купирования кровотечения, с 600 мг/кг до применения эмицизумаба до 90 мг/кг на его фоне. Кроме того, ранее было необходимо дополнительное введение 500 ЕД/кг антиингибиторного коагулянтного комплекса, что не потребовалось при профилактическом применении эмицизумаба, и монотерапии эптакогом альфа активированным было достаточно для купирования гемартроза.

Мы обратили внимание на то, что ни 1 ребенок с тяжелой формой гемофилии А не был госпитализирован для купирования кровотечений и, таким образом, больница не понесла расходов на госпитализацию этой когорты детей.

Рисунок 3

Частота гемартрозов в когорте детей с тяжелой формой гемофилии А на фоне терапии ПШД (А) и эмицизумабом (Б)

Figure 3

Frequency of hemarthrosis episodes in the cohort of children with severe hemophilia A during treatment with bypassing agents (A) and emicizumab (Б)

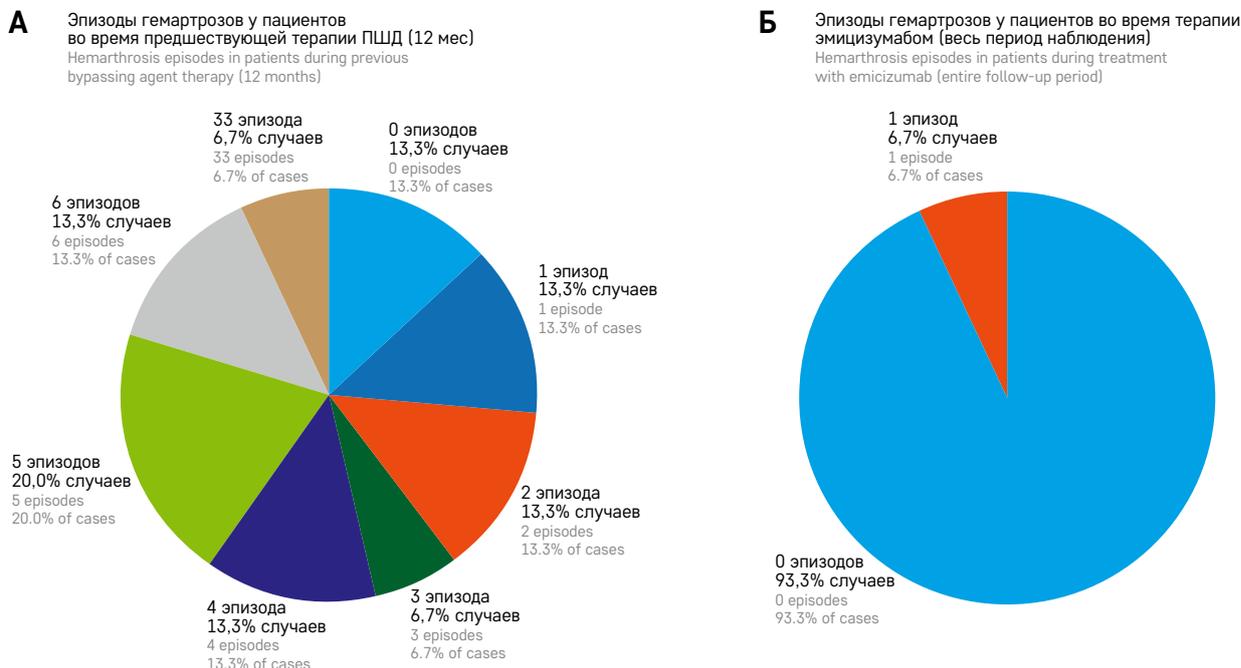
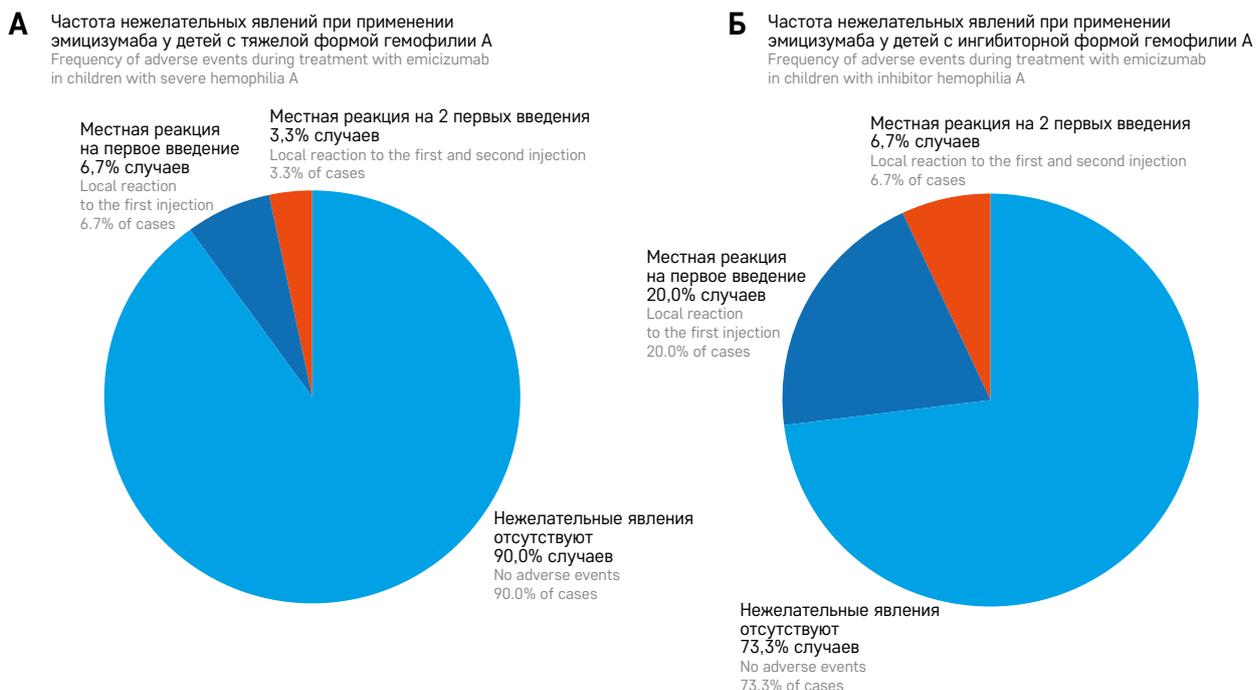


Рисунок 4

Частота развития нежелательных реакций при применении эмицизумаба в группе детей с тяжелой неингибиторной (А) и ингибиторной (Б) формами гемофилии А

Figure 4

Frequency of adverse reactions during the use of emicizumab in the group of children with a severe non-inhibitor (A) and inhibitor (Б) forms of hemophilia A



У 7 из 45 наших пациентов отмечалась реакция в месте введения на первое или 2 первых введения эмицизумаба. В дальнейшем нежелательных реакций больше не наблюдалось. Схожие данные демонстрировали в своей публикации M.U. Callaghan и соавт. [11]. Вероятность риска развития реакции составила 0,1 (95% доверительный интервал 0,021–0,256) для пациентов с тяжелой формой гемофилии А и 0,267 (95% доверительный интервал 0,078–0,551) для детей с ингибиторной формой гемофилии А. Все нежелательные явления были представлены только реакциями в месте введения, других побочных реакций не зарегистрировано. Похожие результаты безопасности были продемонстрированы в недавно опубликованных данных исследования HAVEN 7 [5]. Тяжелых, фатальных реакций, тромботических явлений или реакций, потребовавших отмены или изменения режима введения эмицизумаба, не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты подтверждают высокую эффективность и безопасность эмицизумаба при лечении гемофилии А у детей как с тяжелой формой

заболевания без ингибиторов к FVIII, так и с ингибиторной формой. Применение данного препарата статистически значимо снизило частоту всех кровотечений, частоту спонтанных кровотечений и гемартрозов, улучшая качество жизни пациентов и сокращая необходимость госпитализации и медицинских вмешательств. Эмицизумаб обоснованно занимает свое место в реальной клинической практике как более эффективное средство профилактики гемофилических кровотечений без серьезных нежелательных эффектов у пациентов с тяжелым фенотипом заболевания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Petrov V.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4583-1137>

Lavrentyeva I.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2747-695X>

Vdovin V.V. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7912-3707>

Svirin P.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8461-6077>

Литература

- Mahlangu J., Oldenburg J., Paz-Priel I., Negrier C., Niggli M., Mancuso M.E., et al. Emicizumab Prophylaxis in Patients Who Have Hemophilia A without Inhibitors. *N Engl J Med* 2018; 379 (9): 811–22.
- Oldenburg J., Mahlangu J.N., Kim B., Schmitt C., Callaghan M.U., Young G., et al. Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. *N Engl J Med* 2017; 377 (9): 809–18.
- Young G., Liesner R., Chang T., Sidonio R., Oldenburg J., Jiménez-Yuste V., et al. A multicenter, open-label phase 3 study of emicizumab prophylaxis in children with hemophilia A with inhibitors. *Blood* 2019; 134 (24): 2127–38.
- Pipe S.W., Shima M., Lehle M., Shapiro A., Chebon S., Fukutake K., et al. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of emicizumab prophylaxis given every 4 weeks in people with hemophilia A (HAVEN 4): a multicentre, open-label, non-randomised phase 3 study. *Lancet Haematol* 2019; 6 (6): e295–305.
- Pipe S.W., Collins P., Dhalluin C., Kenet G., Schmitt C., Buri M., et al. Efficacy and safety of emicizumab prophylaxis for the treatment of infants with severe hemophilia A without factor VIII inhibitors: results from the interim analysis of the HAVEN 7 study. *Blood* 2022; 140 (Suppl 1): 457–9.
- Renchi Y., Wang S., Wang X., Sun J., Chuansumrit A., Zhou J., et al. Prophylactic emicizumab for hemophilia A in the Asia-Pacific region: A randomized study (HAVEN 5). *Res Pract Thromb Haemost* 2022; 6 (2): e12670.
- Négrier C., Mahlangu J., Lehle M., Chowdary P., Catalani O., Jiménez-Yuste V., et al. Emicizumab prophylaxis in persons with mild or moderate hemophilia A: results from the interim analysis of the HAVEN 6 study. *Blood* 2021; 138: 343.
- Lusher J.M., Arkin S., Abildgaard C.F., Schwartz R.S. Recombinant factor VIII for the treatment of previously untreated patients with hemophilia A. Safety, efficacy, and development of inhibitors. *Kogenate Previously Untreated Patient Study Group. N Engl J Med* 1993; 328: 453–9.
- Oldenburg J., Brackmann H.H., Schwaab R. Risk factors for inhibitor development in hemophilia A. *Haematologica* 2000; 85: 7–13.
- Жарков П.А., Воронин К.А., Флоринский Д.Б., Андреева Т.А., Батдыева Д.Б., Горошкова М.Ю. и др. Применение эмицизумаба у детей с гемофилией А без ингибиторов в реальной клинической практике. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (4): 96–101. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-96-101 [Zharkov P.A., Voronin K.A., Florinskiy D.B., Andreeva T.A., Batdiyeva D.B., Gorshkova M.Yu., et al. The use of emicizumab in children with hemophilia A without inhibitors in the real-world clinical setting. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (4): 96–101. (In Russ.)].
- Callaghan M.U., Negrier C., Paz-Priel I., Chang T., Chebon S., Lehle M., et al. Long-term outcomes with emicizumab prophylaxis for hemophilia A with or without FVIII inhibitors from the HAVEN 1-4 studies. *Blood* 2021; 137 (16): 2231–42.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 09.11.2023
Принята к печати 16.01.2024



EDN: MPHSNS

Контактная информация:
Шаманская Татьяна Викторовна,
канд. мед. наук, заведующая отделом
изучения эмбриональных опухолей
Института онкологии, радиологии
и ядерной медицины ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: shamanskaya.tatyana@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-108-118

Переносимость и токсичность индукционной химиоиммунотерапии с динутуксимабом бета у первичных пациентов с нейробластомой группы высокого риска

Т.В. Шаманская, Д.Ю. Качанов, Н.С. Иванов, Л.Л. Рабаева, М.Я. Ядгаров, О.С. Зацаринная,
Д.Т. Уталиева, Д.В. Литвинов, А.Г. Румянцев, Г.А. Новичкова

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

Применение GD2-направленных моноклональных антител (МАТ) в терапии пациентов с нейробластомой (НБ) группы высокого риска является одним из элементов этапа постконсолидационного лечения при наличии минимальной опухолевой массы после завершения этапа индукционной терапии. При этом лучший ответ на индукционный этап лечения ассоциирован с более высокими показателями бессобытийной и общей выживаемости. В ряде международных исследований применение МАТ в комбинации с химиопрепаратами показало свою эффективность при лечении пациентов с рецидивами НБ. Таким образом, необходимость достижения хорошего ответа на индукционный этап лечения в группе высокого риска и возможность сочетанного применения химиотерапии и МАТ является основанием для внедрения иммунотерапии в лечение первичных пациентов с НБ на этапе индукции. В статье представлен первый российский опыт проведения химиоиммунотерапии (ХИТ) на этапе индукционного лечения у первичных пациентов с НБ группы высокого риска в рамках моноцентрового исследования. В проспективное исследование, выполненное в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» с 01.2023 по 08.2023, были включены 5 пациентов старше 18 месяцев с НБ группы высокого риска с 4-й стадией заболевания. Данное исследование утверждено экспертным советом и независимым этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (протокол №10э/9-22 от 10.12.2022). Терапия проводилась по модифицированному протоколу GPOH NB2004. Начиная с 3-го индукционного курса, пациенты получали 4 курса химиотерапии в альтернирующем режиме в комбинации с GD2-направленными МАТ ch14.18/CHO (динутуксимаб бета) в дозе 10 мг/м²/сут в виде непрерывной инфузии в течение 5 сут. Оценка токсичности проводилась согласно СТСАЕ 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events Version 5.0). Всего было проведено 20 курсов ХИТ. Все пациенты завершили индукционную терапию с достижением как минимум частичного ответа у 3/5 (60%) детей. Ни в одном случае не было отмечено эпизодов тяжелой непредвиденной токсичности или летального исхода. Все курсы ХИТ были проведены без пауз во время введения МАТ и пациенты получили полные дозы динутуксимаба бета. Основным профилем токсичности III–IV степени отмечался со стороны гематологических показателей. Негематологическая токсичность ≥ III/IV степени регистрировалась в отношении гипокалиемии на 5/20 (25%) курсах, артериальной гипертензии на 4/20 (20%) и диарейного синдрома на 3/20 (15%), что было обусловлено присоединением вирусной инфекции. Потребность в назначении опиоидных анальгетиков уменьшалась от курса к курсу. Выбранный режим комбинации индукционной химиотерапии GPOH NB2004 и динутуксимаба бета показал свою безопасность и приемлемую токсичность у первичных пациентов старше 18 месяцев с НБ 4-й стадии группы высокого риска. Дальнейшие многоцентровые исследования позволят выработать оптимальный индукционный режим на основе комбинации химиопрепаратов и МАТ в целях улучшения выживаемости пациентов с НБ группы высокого риска.

Ключевые слова: нейробластома, дети, высокий риск, индукционная химиотерапия, иммунотерапия, моноклональные антитела, динутуксимаб бета

Шаманская Т.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 108–118. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-108-118

Tolerability and toxicity of induction chemoimmunotherapy with dinutuximab beta in newly diagnosed patients with high-risk neuroblastoma

T.V. Shamanskaya, D.Yu. Kachanov, N.S. Ivanov, L.L. Rabaeva, M.Ya. Yadgarov, O.S. Zatsarinnaya, D.T. Utalieva, D.V. Litvinov, A.G. Romyantsev, G.A. Novichkova

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

Monoclonal antibodies (mAbs) directed against GD2 are used as part of post-consolidation treatment for high-risk neuroblastoma (NB) patients with minimal residual tumor after induction therapy. It has been reported that a good end-of-induction response is associated with better event-free survival and overall survival rates. The use of mAbs in combination with chemotherapy has been shown to be effective in treating patients with relapsed NB in several international studies. Thus, the need to achieve a good end-of-induction response in high-risk NB and the feasibility of combining chemotherapy with mAbs serve as a rationale for employing immunotherapy during induction treatment of newly diagnosed patients with NB. Here, we present the results of the first Russian single-center study on the use of chemoimmunotherapy (CIT) during induction treatment in newly diagnosed patients with high-risk NB. In this prospective study carried out at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology between January and August 2023, we enrolled 5 high-risk stage 4 NB patients aged > 18 months. This study was approved by the Institutional Review Board and the Independent Ethics Committee of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Protocol No. 109/9-22 dated 10.12.2022). Therapy was carried out according to the modified GPOH NB2004 protocol. Starting from the 3rd course of induction, patients received 4 alternating courses of chemotherapy in combination with anti-GD2 mAbs ch14.18/CHO (dinutuximab beta) at a dose of 10 mg/m²/day administered as a continuous infusion over 5 days. Toxicity was assessed as per the CTCAE 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events, version 5.0). A total of 20 courses of CIT were given. All patients completed induction therapy, with 3/5 (60%) achieving at least a partial response. There were no cases of unexpected severe toxicity or death. There were no pauses in the administration of mAb throughout all the CIT cycles, and all the patients received dinutuximab beta at full dose. Grade 3/4 toxicity was predominantly hematological. Non-hematological toxicity of grade ≥ III/IV included hypokalemia in 5/20 (25%) courses, hypertension in 4/20 (20%) courses and diarrhea in 3/20 (15%) courses (due to viral infection). The need for opioid analgesics decreased with each successive course of treatment. The selected CIT regimen combining induction chemotherapy as per the GPOH NB2004 protocol and dinutuximab beta demonstrated safety and acceptable toxicity in newly diagnosed patients with high-risk stage 4 NB older than 18 months. Further multicenter cooperative studies will allow for the development of the optimal induction regimen consisting of chemotherapy and mAbs for improved survival in patients with high-risk NB.

Key words: neuroblastoma, children, high-risk, induction therapy, immunotherapy, monoclonal antibodies, dinutuximab beta

Shamanskaya T.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 108–118.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-108-118

Нейробластома (НБ) – солидная нейроэндокринная опухоль, развивающаяся из клеток-предшественников симпатической нервной системы, которая характеризуется вариабельным клиническим поведением, обусловленным внутри- и межопухолевой гетерогенностью [1, 2]. Стратификация пациентов на группы риска с учетом возраста, генетического профиля и степени распространенности опухолевого процесса, лежащая в основе концепции риск-адаптированной терапии, безусловно, позволила улучшить показатели выживаемости детей с НБ, однако прогноз у наиболее неблагоприятной подгруппы пациентов высокого риска по-прежнему остается неудовлетворительным [1]. Показатели 5-летней общей (ОВ) и бессобытийной (БСВ) выживаемости у пациентов с НБ группы высокого риска до внедрения иммунотерапии составляли 36% и 25% соответственно [3]. В то же время результаты терапии с применением модифицированного протокола, основанного на концепции немецкой группы NB2004, в Российской Федерации (РФ) продемонстрировали сопоставимые с оригинальным протоколом показатели 5-летней ОВ и БСВ, равные 49,4% и 33,3% соответственно, при этом внутригрупповая гетерогенность пациентов позволила выделить наиболее неблагоприятную в прогностическом плане категорию пациентов с 4-й стадией заболевания (показатели 5-летней ОВ и БСВ – 42,9% и 25,9% соответственно) [4]. Таким образом, несмотря на приме-

нение мультимодального подхода, современные возможности по оптимизации и совершенствованию режимов полихимиотерапии посредством комбинации различных цитостатических агентов, похоже, достигли плато [5], что актуализирует потребность в разработке более эффективных схем терапии НБ группы высокого риска [4].

Внедрение метода иммунотерапии моноклональными антителами (МАТ) на этапе постконсолидации позволило достоверно улучшить прогноз у пациентов с НБ группы высокого риска, достигших хорошего ответа на терапию первой линии [6], увеличив показатели 5-летней ОВ и БСВ на 14% и 15% соответственно [7]. Однако показатели выживаемости по-прежнему остаются недостаточно удовлетворительными.

Преодоление гетерогенной лекарственной резистентности посредством синергического взаимодействия лекарственных веществ – одно из самых перспективных направлений по совершенствованию режимов противоопухолевой терапии [8].

Известная способность МАТ к потенцированию цитостатических эффектов ряда химиотерапевтических препаратов в доклинической фазе экспериментальных исследований анти-GD2-МАТ стала одной из перспективных моделей для клинических исследований [9]. Режимы химиоиммунотерапии (ХИТ), основанные на различных комбинациях цитостатических препаратов с МАТ (ch14.18/SP2/0, hu14.18K322A,

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 09.11.2023

Accepted 16.01.2024

Correspondence:

Tatyana V. Shamanskaya, Cand. Med. Sci., Head of the Department for Embryonal Tumor Research at the Institute of Oncology, Radiology and Nuclear Medicine at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation Address: 1 Samoy Mashela St., Moscow 117997, Russia E-mail: shamanskaya.tatyana@gmail.com

ch14.18/СНО, Nu3F8), выполнимы и обеспечивают клинически значимые ответы у пациентов с рефрактерной/рецидивирующей НБ, что наряду с важностью ответа на индукционный этап терапии [10, 11] актуализирует потребность исследования этого подхода не только при рецидивах заболевания, но также и у больных с впервые диагностированной НБ на этапе индукции [12].

Наиболее широко применяемым в Европе и доступным в РФ GD2-специфическим препаратом МАТ является ch14.18/СНО (динутуксимаб бета). Ретроспективный анализ результатов терапии 25 пациентов с рецидивирующей/рефрактерной НБ, получавших лечение длительной инфузией динутуксимаба бета в сочетании с курсами N5 и N6, входящими в рекомендации по лечению НБ Немецкого общества детских онкологов и гематологов (Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie, GPOH), не продемонстрировал каких-либо выраженных проявлений токсичности, в том числе летальных, и не привел к серьезным задержкам в лечении [13]. Таким образом, включение режима ХИТ на основе индукционной терапии GPOH в сочетании с МАТ ch14.18/СНО в более раннюю фазу мультимодальной терапии у первичных пациентов с НБ представляется крайне перспективным направлением, нуждающимся во всесторонней оценке переносимости и токсичности, подающим надежду на улучшение результатов лечения у наиболее неблагоприятной в прогностическом плане подгруппы пациентов с 4-й стадией в возрасте старше 18 месяцев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мы провели пилотное исследование – проспективный анализ применения ХИТ на этапе индукционного лечения у пациентов с впервые установленным диагнозом НБ/ганглионейробластомы (ГНБ) 4-й стадии группы высокого риска в возрасте старше 18 месяцев, получавших лечение в рамках модифицированного протокола GPOH NB2004 в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России в период с января по август 2023 г. (клиническое исследование NB-HR-2023).

В клиническое моноцентровое исследование NB-HR-2023, утвержденное экспертным советом и независимым этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (протокол №10э/9-22 от 10.12.2022), были включены 5 пациентов, соответствовавших основным критериям включения: верифицированный диагноз НБ/ГНБ 4-й стадии и возраст на момент установления диагноза старше 18 месяцев. Диагноз был верифицирован на основании соответствия одному из международных критериев [14]. Определение степени

распространенности опухолевого процесса осуществлялось в соответствии с международной системой стадирования НБ INSS (International Neuroblastoma Staging System) [14] и международной системой стадирования групп риска нейробластомы INRGSS (International Neuroblastoma Risk Group Staging System) [15]. Для стратификации пациентов на группы риска использовались критерии протокола GPOH NB2004 (главный исследователь – профессор F. Berthold) [3].

Дизайном клинического исследования NB-HR-2023 было предусмотрено применение интенсифицированного этапа индукционной терапии, в рамках которого после биопсии или удаления опухоли применялось 2 стандартных курса химиотерапии по схемам N5 (винкристин 1,5 мг/м²/сут внутривенно за 1 ч в день 1, цисплатин 40 мг/м²/сут внутривенно непрерывной инфузией в дни 1–4, эпопозид 100 мг/м²/сут внутривенно непрерывной инфузией в дни 1–4) и N6 (винкристин 1,5 мг/м²/сут внутривенно за 1 ч в дни 1 и 8, дакарбазин 200 мг/м²/сут внутривенно за 1 ч в дни 1–5, ифосфамид 1500 мг/м²/сут внутривенно за 23 ч в дни 1–5, доксорубицин 30 мг/м²/сут внутривенно за 4 ч в дни 6–7). Начиная с 3-го курса пациенты получали 4 курса аналогичной химиотерапии в альтернирующем режиме в комбинации с GD2-направленными МАТ ch14.18/СНО (динутуксимаб бета) – курсы N5-Q и N6-Q. Динутуксимаб бета в дозе 10 мг/м²/сут вводился непрерывной инфузией в течение 5 сут, начиная с 5-го дня в курсе N5-Q и с 6-го дня в курсе N6-Q. Стимуляция гранулоцитопозеза в курсах ХИТ осуществлялась с применением гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) в дозе 5 мкг/кг, начиная с +9-х суток в курсе N5-Q и с +10-х суток в курсе N6-Q, подкожно ежедневно до достижения абсолютного количества нейтрофилов > 2,0 × 10⁹/л.

Отсроченная операция выполнялась после 4–6-го курсов индукционной терапии, мобилизация и аферез периферических стволовых клеток (ПСК) осуществлялись после 2–5-го курсов, при этом этапы консолидации и постконсолидации проводились в соответствии с клиническими рекомендациями, утвержденными на заседании Научно-практического совета Минздрава России (протокол от 14.04.2020 №16/2-3-4), или в рамках текущей клинической практики ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России вне рамок протокола клинического исследования NB-HR-2023. В частности, пациенты, достигшие хорошего ответа на проводимую индукционную терапию (не менее чем частичного ответа (ЧО)), в последующем в качестве постконсолидации получали комбинацию 13-цис-Ретиноевой кислоты и динутуксимаба бета.

Оценка переносимости и токсичности терапии

Анализ переносимости и токсичности терапии осуществлялся на основании общих критериев для оценки нежелательных явлений CTCAE 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events Version 5.0) [16]. Оценка боли производилась родителями и медицинским персоналом посредством применения валидированных и адаптированных по возрасту систем: шкалы Вонга–Бейкера (Wong–Baker scale) [17], детской шкалы дискомфорта и боли (Kindliche unbehagens-und Schmerzskala) [18]. Для корректной интерпретации результатов исследования на протяжении всех курсов у пациентов использовалась одна и та же шкала. Также на фоне введения МАТ производилась оценка длительности применения опиоидных анальгетиков.

Оценка эффективности терапии

Оценка эффективности терапии проводилась в соответствии с международными критериями оценки ответа на терапию у пациентов с НБ [14] после 4-го и 6-го курсов индукционной ХИТ. В рамках данных критериев выделялись следующие варианты ответа: полный ответ (ПО), очень хороший ЧО (ОХЧО), ЧО, смешанный ответ (СО), стабилизация (СЗ) и прогрессирование (ПЗ) заболевания. При оценке ответа проводилось полное обследование, включая магнитно-резонансную и компьютерную томографию органов грудной и брюшной полостей, оценку концентрации опухолевых маркеров (нейроспецифическая енолаза, лактатдегидрогеназа, ферритин), цитологическое исследование костного мозга из 4 точек и морфологическое исследование трепанобиоптатов костного мозга из 2 точек, а также радионуклидные методы исследования: скинтиграфия с ^{123}I -метайодбензилгуанидином и/или позитронно-эмиссионная томография/компьютерная томография с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой.

Статистический анализ

В качестве описательной статистики выбрано представление в виде медианы и разброса данных (минимальное и максимальное значения). Для сравнительной оценки интервала между курсами терапии использовался тест Уилкоксона, критический p -уровень значимости выбран равным 0,05 (двусторонний). Статистический анализ данных проводился с использованием XLSTAT и IBM SPSS Statistics 27.0. Дата окончания сбора данных для анализа – 28.08.2023.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика пациентов

Медиана возраста пациентов, включенных в исследование, составила 80 месяцев (разброс

29–131 месяц). Соотношение мальчики:девочки составило 0,25:1. У всех пациентов установлена 4-я стадия заболевания по INSS и М-стадия по INRGSS. Первичная локализация опухоли в 4/5 (80%) случаях была представлена надпочечником, в 1/5 (20%) случае имела место первично-множественная форма заболевания с поражением надпочечника, паравертебральных ганглиев заднего средостения и забрюшинного пространства. Среди гистологических вариантов доминировала низкодифференцированная НБ ($n = 4/5$; 80%), в 1/5 (20%) случае имела место смешанная ГНБ, при этом верификация диагноза осуществлялась на основании гистологического исследования биоптата первичной опухоли ($n = 3/5$; 80%) или метастаза ($n = 1/5$; 20%) и только в 1/5 случае была произведена первичная туморадреналэктомия в объеме макроскопически радикальной операции. Среди компартментов метастатического распространения превалировало поражение костного мозга и костей скелета, которое отмечено у всех пациентов ($n = 5/5$; 100%), реже встречалось поражение отдаленных лимфатических узлов ($n = 3/5$; 60%). Исследование цитогенетического профиля опухоли продемонстрировало наличие амплификации гена *MYCN* у 2/5 (40%) больных, в 1/5 (20%) случае имело место увеличение числа копий (gain) гена *MYCN*. Делеция локуса 1p была установлена у 3/5 (60%) пациентов, делеция локуса 11q – у 3/5 (60%). В 1/5 (20%) случае выявлена высококопийная амплификация гена *ALK*. Общая характеристика пациентов представлена в *таблице 1*.

Оценка безопасности и токсичности

Всего проведено 20 курсов ХИТ. Все пациенты завершили индукционную терапию. Ни в одном случае не было отмечено пауз в проведении иммунотерапии, все курсы ХИТ были полностью завершены. В течение 20 оцениваемых курсов ХИТ, комбинированных с динутуксимабом бета, не было зарегистрировано никаких неожиданных серьезных токсических явлений, в том числе летальных исходов.

Гематологическая токсичность зарегистрирована у всех пациентов во всех циклах ХИТ и была представлена тяжелой лейкопенией \geq III–IV степени в 95% циклов ($n = 19/20$), анемией и тромбоцитопенией в 80% циклов ($n = 16/20$), в 2/20 циклах отмечена специфическая для динутуксимаба бета эозинофилия I степени, которая не проявлялась клинически и не требовала проведения симптоматической терапии (*таблица 2*).

В профиле негематологической токсичности \geq III–IV степени наиболее часто регистрировались гипокалиемия ($n = 5/20$; 25%), артериальная гипертензия ($n = 4/20$; 20%) (у 1 пациента гипертензия определялась на протяжении всех курсов ХИТ),

тошнота ($n = 1/20$; 5%), диарея ($n = 3/20$; 15%) (при этом в 2 случаях было подтверждено течение норовирусной инфекции) и повышение печеночных ферментов – аланинаминотрансферазы/аспартатаминотрансферазы ($n = 2/20$; 10%), оральная мукозит отмечен на $1/20$ (5%) курсе. Повышения

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в исследование NB-HR-2023

Table 1
Characteristics of the patients included in the NB-HR-2023 study

Категория Category	Пациенты (n = 5) Patients (n = 5)
Возраст на момент постановки диагноза, медиана (диапазон), месяцы Age at diagnosis, median (range), month	80 (29–131)
Пол, n: Sex, n:	
мальчики male	1
девочки female	4
Гистологический вариант, n: Histological variant, n:	
низкодифференцированная НБ poorly differentiated NB	4
смешанная ГНБ intermixed GNB	1
Стадия по INSS, n: INSS stage, n:	
1	0
2	0
3	0
4	5
4s	0
Стадия по INRGSS, n: INRGSS stage, n:	
L1	0
L2	0
M	5
MS	0
Локализация первичной опухоли, n: Primary tumor site, n:	
надпочечник adrenal gland	4
первично-множественная форма multiple primary tumors	1
Локализация метастазов, n: Site of metastasis, n:	
костный мозг bone marrow	5
кости скелета bones	5
отдаленные лимфатические узлы distant lymph nodes	3
MUSN, n: amplification	
амплификация amplified	2
отсутствие амплификации non-amplified	2
gain	1
Делеция 1p, n: 1p deletion, n:	
есть yes	3
нет no	2
Делеция 11q, n: 11q deletion, n:	
есть yes	3
нет no	2
Амплификация ALK, n: ALK amplified, n:	
есть yes	1
нет no	4

Notes. NB, neuroblastoma; GNB, ganglioneuroblastoma

тяжелой негематологической токсичности от цикла к циклу отмечено не было. При присоединении лихорадки во время введения МАТ или после завершения курса ХИТ при развитии клиники инфекционного процесса выполнялись бактериологические и вирусологические исследования. Всего было выполнено 37 заборов крови для бактериологического исследования, случаев бактериемии отмечено не было. Среди специфических возбудителей инфекций были идентифицированы Norwalk virus ($n = 3/20$; 15%), Rhinovirus, Adenovirus, Parainfluenza-3-virus, Astrovirus, Rotavirus ($n = 1/20$; 5%).

Боль, связанная с приемом динутуксимаба бета, была наиболее интенсивной в 1-м цикле (I–II степени – у 4/5 пациентов, \geq III/IV степени – у 1/5) и снижалась от цикла к циклу: во 2-м цикле (I–II степени – у 5/5 пациентов, \geq III/IV степени – у 0), в 3-м цикле (I–II степени – у 2/5 пациентов, \geq III/IV степени – у 0), в 4-м цикле (I–II степени – у 2/5 пациентов, \geq III/IV степени – у 0).

Потребность в ежедневном использовании опиоидных анальгетиков, детерминированная механизмами развития нейропатической боли, ассоциированной с применением GD2-специфических антител [19, 20], уменьшалась от цикла к циклу и полностью нивелировалась к 6-му порядковому курсу индукционной терапии. Длительность введения морфина на курсах ХИТ представлена в таблице 3.

Мы также определили интервалы между курсами терапии для оценки серьезности отклонения от тайминга по сравнению с запланированным интервалом в 21 день. Медиана межкурсового интервала между 1-м и 2-м курсами составила 21 (21–23) день, 2-м и 3-м – 22 (21–22) дня, 3-м и 4-м – 21 (21–22) день, 4-м и 5-м – 28 (21–36) дней, 5-м и 6-м – 25 (22–32) дней, при этом наблюдалось статистически значимое увеличение длительности межкурсовых интервалов между курсами химиотерапии и ХИТ ($p = 0,023$). Увеличение интервалов между курсами ХИТ было обусловлено проведением мобилизации и афереза ПСК и хирургического лечения.

Отсроченная операция у 3/5 (60%) детей выполнялась между 4-м и 5-м курсами (с интервалом до операции 22, 23 и 26 дней), у одного больного макроскопически радикальная операция была проведена инициально, у другого пациента хирургическое лечение было выполнено после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Аферез ПСК у всех пациентов был проведен после 5-го курса индукционной полихимиотерапии. Ни в одном случае не было удлинения интервала между курсами ХИТ из-за токсичности терапии.

Все включенные в исследование пациенты были обследованы после 4 и 6 запланированных курсов программной индукционной терапии. Ответ

Таблица 2
Характеристика токсичности курсов ХИТ

Table 2
Toxicity of chemoimmunotherapy cycles

Критерий по СТСАЕ CTCAE term	Степень токсичности по СТСАЕ, n (%) CTCAE grade, n (%)							
	Цикл 1 Cycle 1		Цикл 2 Cycle 2		Цикл 3 Cycle 3		Цикл 4 Cycle 4	
	I-II	III-IV	I-II	III-IV	I-II	III-IV	I-II	III-IV
Анемия Anemia	2/5 (40)	3/5 (60)	0/5 (0)	5/5 (100)	0/5 (0)	5/5 (100)	2/5 (40)	3/5 (60)
Лейкопения White blood cell decreased	1/5 (20)	4/5 (80)	0/5 (0)	5/5 (100)	0/5 (0)	5/5 (100)	0/5 (0)	5/5 (100)
Эозинофилия Eosinophilia	2/5 (40)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Нейтропения Neutrophil count decreased	2/5 (40)	3/5 (60)	0/5 (0)	5/5 (100)	0/5 (0)	5/5 (100)	0/5 (0)	5/5 (100)
Тромбоцитопения Platelet count decreased	2/5 (40)	3/5 (60)	1/5 (20)	4/5 (80)	0/5 (0)	5/5 (100)	1/5 (20)	4/5 (80)
Повышение креатинина Creatinine increased	2/5 (40)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)
Повышение билирубина Blood bilirubin increased	1/5 (20)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Повышение аланинаминотрансферазы/ аспартатаминотрансферазы Alanine/aspartate aminotransferase increased	2/5 (40)	0/5 (0)	2/5 (40)	2/5 (40)	3/5 (60)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)
Повышение щелочной фосфатазы Alkaline phosphatase increased	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Гипоальбуминемия Hypoalbuminemia	3/5 (60)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)	4/5 (80)	0/5 (0)
Гипонатриемия Hyponatremia	1/5 (20)	0/5 (0)	3/5 (60)	0/5 (0)	3/5 (60)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)
Гипокалиемия Hypokalemia	1/5 (20)	1/5 (20)	2/5 (40)	2/5 (40)	3/5 (60)	1/5 (20)	0/5 (0)	1/5 (20)
Кардиотоксичность (снижение фракции выброса левого желудочка) Cardiac toxicity (ejection fraction decreased)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Нефротоксичность (хроническая болезнь почек) Nephrotoxicity (chronic kidney disease)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Инфекция Infections and infestations	2/5 (40)	1/5 (20)	2/5 (40)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)
Лихорадка Fever	3/5 (60)	0/5 (0)	5/5 (100)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)
Оральный мукозит Mucositis oral	1/5 (20)	1/5 (20)	3/5 (60)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)
Тошнота Nausea	4/5 (80)	1/5 (20)	2/5 (40)	0/5 (0)	4/5 (80)	0/5 (0)	3/5 (60)	0/5 (0)
Диарея Diarrhea	1/5 (20)	2/5 (40)	4/5 (80)	0/5 (0)	2/5 (40)	1/5 (20)	1/5 (20)	0/5 (0)
Констипация Constipation	2/5 (40)	0/5 (0)	3/5 (60)	0/5 (0)	3/5 (60)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)
Синдром повышенной проницаемости капилляров Capillary leak syndrome	1/5 (20)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Гипотензия Hypotension	2/5 (40)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)
Гипертензия Hypertension	1/5 (20)	1/5 (20)	1/5 (20)	1/5 (20)	2/5 (40)	1/5 (20)	1/5 (20)	1/5 (20)
Асцит Ascites	1/5 (20)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Респираторный дистресс-синдром взрослого типа Adult respiratory distress syndrome	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Периферическая моторная нейропатия Peripheral motor neuropathy	1/5 (20)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)
Периферическая сенсорная нейропатия Peripheral sensory neuropathy	1/5 (20)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)	3/5 (60)	0/5 (0)	3/5 (60)	0/5 (0)
Сомноленция Somnolence	1/5 (20)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Снижение остроты зрения Vision decreased	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Боль Pain	4/5 (80)	1/5 (20)	5/5 (100)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)	2/5 (40)	0/5 (0)
Бронхоспазм Bronchospasm	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Крапивница Urticaria	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
Анафилаксия Anaphylaxis	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)

был проанализирован с применением международных критериев оценки ответа у пациентов с НБ (таблица 4).

Хорошего ответа (ПО/ОХЧО/ЧО) после завершения 6 курсов индукционной терапии достигли 3/5 (60%) человека. Только в 1 случае было достигнуто улучшение характера ответа после 6-го курса по сравнению с 4-м. В настоящее время все пациенты живы без развития неблагоприятных событий и находятся на этапе проведения терапии первой линии.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пятьдесят лет назад результаты лечения пациентов с НБ группы высокого риска были крайне неудовлетворительными и 10-летняя БСВ в первых протоколах GPOH не превышала 3% [21]. В настоящее время при применении многокомпонентной модели лечения с использованием высокодозной химиотерапии, лучевой терапии и иммунотерапии на этапе консолидации удалось повысить 5-летнюю БСВ и ОВ до 56,6% и 73,2% соответственно [22]. При этом известно, что большинство пациентов с НБ группы высокого риска достигают удовлетворительного ответа после завершения индукционного этапа лечения, однако порядка 20–30% пациентов характеризуются плохим ответом, включая раннюю ПЗ в 7–15% случаев [23]. Неоспоримые доказательства международных исследовательских групп, систематизированные отечественным метаанализом, о

Таблица 3

Длительность внутривенной инфузии морфина на курсах ХИТ (дни)

Table 3
Duration of intravenous morphine infusions during chemotherapy cycles (days)

Пациент Patient	N5-Q (1)	N6-Q (2)	N5-Q (3)	N6-Q (4)
№1	2	2	0	0
№2	4	2	0	0
№3	3	2	0	0
№4	2	2	1	0
№5	3	1	1	0

Таблица 4

Ответ на индукционную терапию

Table 4
Response to the induction therapy

Пациент Patient	4 курса 4 cycles	6 курсов 6 cycles
№1	ЧО PR	ОХЧО VGPR
№2	СО MR	СО MR
№3	СО MR	СО MR
№4	ЧО PR	ЧО PR
№5	ЧО PR	ЧО PR

Note. CR – complete response; VGPR – very good partial response; PR – partial response; MR – mixed response; SD – stable disease; PD – progressive disease.

влиянии индукционного ответа на долгосрочную выживаемость [10, 11] закономерно актуализируют проблему улучшения индукционного ответа, при этом интенсификация индукционной терапии путем добавления цитостатических препаратов, по-видимому, не оказывает значимого влияния на улучшение долгосрочных результатов лечения пациентов группы высокого риска [3], что обосновывает необходимость переноса новых методов лечения, в частности GD2-направленной иммунотерапии мАТ, продемонстрировавшей свою эффективность в других фазах лечения (консолидация), в индукционную терапию.

Обоснованием для реализации представленного в статье пилотного протокола является не только важность улучшения ответа на индукционный этап лечения в группе высокого риска, но и результаты комбинированного использования мАТ с химиотерапией [24], а также опыт американской группы по применению мАТ (hu14.18K322A), начиная с этапа индукционной терапии [25], которые продемонстрировали улучшение ответа на индукционный этап лечения (ПО/ОХЧО/ЧО был достигнут в 97% случаев).

Позднее была опубликована работа, продемонстрировавшая эффективность другого коммерчески доступного мАТ – динутуксимаба, который вводился с первого цикла индукционной полихимиотерапии со 2-го по 5-й день 10-часовой инфузией в комбинации с цитокинами: интерлейкином-2 и гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (ГМ-КСФ) [26]. ЧО или лучше был достигнут у 96% больных, при выявлении токсичности более III степени в отношении гематологических показателей – у всех пациентов, лихорадки – в 44% случаев, гипоксии – в 20% и гипоальбуминемии – в 11%.

Так как исторически на территории РФ для лечения пациентов с НБ, в том числе группы высокого риска, использовались протоколы GPOH с индукционным режимом, несколько отличающиеся от других международных исследований, большой интерес представляли данные Н. Lode и соавт. по комбинированному использованию мАТ (динутуксимаб бета) и курсов стандартной полихимиотерапии по схемам N5/N6.

В работе Н. Lode и соавт. на группе больных с рецидивами НБ была показана возможность комбинации динутуксимаба бета с курсами полихимиотерапии по схемам N5/N6 (режим индукционной терапии группы GPOH) при отсутствии тяжелой и летальной токсичности с достижением лучшего ответа в 48% случаев [13]. При этом мАТ вводились длительной 24-часовой инфузией без добавления цитокинов с 5-го дня от начала химиотерапии (курсовая доза препарата 50 мг/м²). Профиль выраженной токсичности более III степени отмечался в отношении гема-

тологических показателей и инфекционных эпизодов. Однако авторы подчеркивают, что включенные в исследование пациенты ранее получали интенсивную терапию.

Таким образом, в свете растущего интереса к комбинированным режимам индукционной терапии на основе GD2-направленных МАТ мы проспективно проанализировали выполнимость и безопасность применения режима ХИТ на основе курсов N5 и N6 GPOH в сочетании с ch14.18/CHO (динутуксимаб бета) в качестве терапии первой линии у наиболее неблагоприятной в прогностическом плане когорты пациентов с впервые диагностированной НБ 4-й стадии группы высокого риска старше 18 месяцев.

При разработке пилотного протокола мы учитывали опыт международных исследовательских групп по проведению ХИТ, который различается как по срокам инициации индукционной ХИТ, так и дозовому режиму МАТ [12]. Вопрос о том, с какого курса индукционной терапии необходимо добавление иммунотерапии анти-GD2-МАТ, остается открытым [12]. Так, в рамках пилотного клинического исследования II фазы ANBL17P1 (NCT03786783) Детская онкологическая группа (Children's Oncology Group) оценивала безопасность и эффективность применения МАТ динутуксимаб в сочетании с ГМ-КСФ у пациентов с впервые диагностированной НБ группы высокого риска, начиная с 3-го курса индукционной терапии [27]. Кроме того, режимы индукционной полихимиотерапии, используемые в Северной Америке, и режим GPOH отличаются по набору используемых цитостатических препаратов и количеству курсов терапии. В связи с этим в рамках представленного в настоящей статье пилотного протокола, направленного в первую очередь на оценку безопасности и переносимости ХИТ, было принято решение о применении динутуксимаба бета, начиная с 3-го курса индукции, что позволило избежать применения исследуемого режима ХИТ у пациентов в тяжелом состоянии, обусловленном большой массой опухоли в дебюте заболевания.

Вопрос о дозовом режиме МАТ в рамках индукционной ХИТ также остается не решенным. В нашем пилотном исследовании мы использовали дозу, равную 50% от стандартной, применяемой в курсах постконсолидационной терапии (50 мг/м²/курс) [13]. Обоснованием выбора данного дозового режима являются результаты анализа, проведенного группой H. Lode и соавт. у пациентов с рецидивами заболевания, которые показали эффективные концентрации динутуксимаба бета на момент окончания инфузии МАТ при использовании указанной дозы препарата [13]. Также необходимо отметить, что медиана интервала между курсами терапии у первичных пациентов в нашем исследовании была меньше, чем аналогичный

временной интервал у значительно предлеченных пациентов с рецидивами в исследовании немецких авторов (медиана 28–35 дней) [13]. Данный факт может оказывать положительное влияние на минимальные концентрации МАТ, определяемые перед следующим циклом терапии, поскольку они важны для поддержания непрерывной активации эффекторных клеток на фоне терапии. Однако последнее утверждение требует подтверждения в рамках проспективных исследований с оценкой фармакокинетики динутуксимаба бета в режимах индукционной ХИТ.

В нашем исследовании было показано, что добавление динутуксимаба бета в виде 5-дневной непрерывной инфузии в дозе 10 мг/м²/сут (50 мг/м²/курс) с 3-го цикла индукционной терапии является переносимой терапевтической опцией при отсутствии тяжелых, в том числе летальных, побочных эффектов. Выбранная модель комбинированной ХИТ не приводила к задержке начала последующих курсов полихимиотерапии, хирургического этапа лечения и афереза.

Профиль токсичности, наблюдавшийся в нашей когорте, отражает те данные, о которых сообщалось ранее как для динутуксимаба бета [28, 29], так и для курсов индукции немецкой группы, применяемой для лечения пациентов с НБ группы высокого риска [3].

Основной профиль токсичности III–IV степени, который был отмечен в нашем исследовании при использовании ХИТ, относился к гематологическим показателям и хорошо корригировался заместительной гемотрансфузионной терапией и рутинным применением Г-КСФ, что в целом является ожидаемым моментом на этапе проведения индукционной терапии с использованием курсов N5/N6. Эпизоды лихорадки в ряде случаев были обусловлены присоединением инфекционного процесса вирусной этиологии.

Эпизоды негематологической токсичности > III степени были относительно редки. К ним относились электролитные нарушения (гипокалиемия) и повышение артериального давления (у 1 пациента старшего возраста). Клиника тяжелого диарейного синдрома была связана с присоединением доказанной вирусной инфекции.

Таким образом, мы увидели ожидаемую гематологическую токсичность, которая в целом сопровождает курсы индукционной химиотерапии, и почти полное отсутствие тяжелой негематологической токсичности, которая помешала бы дальнейшему продолжению ХИТ.

Аналогично предшествующим исследованиям, оценивавшим возникновение нейропатической боли [19, 20], ассоциированной с динутуксимабом бета [29], в нашей работе потребность в ежедневном

использовании опиоидных анальгетиков уменьшалась от цикла к циклу и полностью нивелировалась к 6-му порядковому курсу индукционной терапии (4-му курсу ХИТ), при этом ни один пациент не испытывал боли \geq III/IV степени, начиная со 2-го (4-го порядкового) курса терапии.

Ни у одного ребенка в нашем исследовании не было отмечено синдрома высвобождения цитокинов III/IV степени или анафилактических реакций, о которых обычно сообщают у пациентов, получавших мАТ [28, 29]. Это, вероятнее всего, обусловлено использованием мАТ в монорежиме без добавления цитокинов.

В дополнение к ожидаемому профилю токсичности осуществимость индукционного режима ХИТ на основе курсов N5 и N6 GPOH и динутуксимаба бета дополнительно подтверждалась относительно постоянными временными интервалами между запланированными курсами химиотерапии. Более длительные промежутки после 4-го и 5-го курсов ХИТ были обусловлены необходимостью проведения хирургического этапа и афереза ПСК. Для 2 пациентов, которым не выполнялось хирургическое лечение после 4-го курса индукционной терапии, интервалы до следующего курса были равны 21 и 27 дням.

В нашем исследовании 60% больных достигли как минимум Ч0 на индукционный этап терапии. При этом необходимо подчеркнуть, что в исследование были включены преимущественно пациенты старшего возраста и в 3/5 случаях была выявлена делеция 11q, что является единственным маркером неблагоприятного ответа на индукционный этап лечения [10].

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что сочетанное применение режима комбинированной ХИТ на основе курсов индукции N5 и N6 GPOH с ch14.18/СНО (динутуксимаб бета) является возможным вариантом лечения в качестве индукционной терапии первой линии у пациентов с НБ группы высокого риска с 4-й стадией старше 18 месяцев и сопровождается приемлемым уровнем токсичности. Однако для реализации такого комбинированного подхода в лечении НБ группы высокого риска в других лечебных учреждениях в целом необходим опыт проведения иммунотерапии мАТ, а также определенный уровень подготовки медицинского персонала и клиники. Необходимы доступность заместительной гемотрансфузионной терапии, круглосу-

суточная поддержка врачами-реаниматологами в случае возникновения тяжелых нежелательных реакций, возможность проведения вирусологических и бактериологических исследований для коррекции антимикробной терапии.

Таким образом, разработка новых подходов к индукции в лечении пациентов с НБ группы высокого риска с внедрением иммунотерапии GD2-направленными мАТ в дополнение к другим инновационным методам лечения, таким как молекулярно-направленная терапия ингибиторами ALK, радиоизотопная терапия, позволит не только улучшить отдаленные результаты лечения, но и, возможно, в будущем снизить количество отдаленных побочных эффектов за счет отказа от некоторых высокотоксичных методов терапии (аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В пилотном проекте мы сообщили о безопасности, приемлемом профиле токсичности и возможности комбинирования динутуксимаба бета с курсами индукционной терапии N5 и N6 GPOH в качестве первой линии у пациентов с НБ 4-й стадии группы высокого риска старше 18 месяцев. Дальнейшее изучение индукционной ХИТ планируется путем организации мультицентрового исследования, направленного на оценку эффективности выбранного режима ХИТ, при включении большего числа пациентов и более длительном периоде наблюдения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Shamanskaya T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3767-4477>

Kachanov D.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3704-8783>

Ivanov N.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9927-8445>

Rabaeva L.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9450-125X>

Yadgarov M.Ya. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3792-1682>

Zatsarinnaya O.S. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-2670-547X>

Utalieva D.T. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7479-0007>

Litvinov D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7461-0050>

Rumyantsev A.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1643-5960>

Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Литература

1. Qiu B., Matthay K.K. Advancing therapy for neuroblastoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2022; 19 (8): 515–33. DOI: 10.1038/s41571-022-00643-z
2. Gomez R.L., Ibragimova S., Ramachandran R., Philpott A., Ali F.R. Tumoral heterogeneity in neuroblastoma. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2022; 1877 (6): 188805. DOI: 10.1016/j.bbcan.2022.188805
3. Berthold F., Faldum A., Ernst A., Boos J., Dilloo D., Eggert A., et al. Extended induction chemotherapy does not improve the outcome for high-risk neuroblastoma patients: results of the randomized open-label GPOH trial NB2004-HR. *Ann Oncol* 2020; 31 (3): 422–9. DOI: 10.1016/j.annonc.2019.11.011
4. Шаманская Т.В., Варфоломеева С.Р., Качанов Д.Ю., Моисеенко Р.А., Телешова М.В., Коновалов Д.М. и др. Результаты терапии пациентов с нейробластомой группы высокого риска: опыт НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (2): 65–91. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-2-65-91 [Shamanskaya T.V., Varfolomeeva S.R., Kachanov D.Yu., Moiseenko R.A., Teleshova M.V., Konovalov D.M., et al. The results of therapy in patients with high-risk neuroblastoma: the experience of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (2): 65–91. (In Russ.)].
5. Anderson J., Majzner R.G., Sondel P.M. Immunotherapy of Neuroblastoma: Facts and Hopes. *Clin Cancer Res* 2022; 28 (15): 3196–206. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-1356
6. Шаманская Т.В., Андреева Н.А., Уталиева Д.Т., Качанов Д.Ю. GD2-направленная иммунотерапия нейробластомы группы высокого риска с использованием химерных анти-тел ch14.18. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2020; 19 (3): 173–8. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-173-188 [Shamanskaya T.V., Andreeva N.A., Utaliev D.T., Kachanov D.Yu. Anti-GD2 immunotherapy with the chimeric antibody ch14.18 for high-risk neuroblastoma. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2020; 19 (3): 173–8. (In Russ.)].
7. Ladenstein R., Pötschger U., Valteau-Couanet D., Luksch R., Castel V., Ash S., et al. Investigation of the Role of Dinutuximab Beta-Based Immunotherapy in the SIOPEL High-Risk Neuroblastoma 1 Trial (HR-NBL1). *Cancers (Basel)* 2020; 12 (2): 309. DOI: 10.3390/cancers12020309
8. Plana D., Palmer A.C., Sorger P.K. Independent Drug Action in Combination Therapy: Implications for Precision Oncology. *Cancer Discov* 2022; 12 (3): 606–24. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-0212
9. Troschke-Meurer S., Zumpe M., Meißner L., Siebert N., Grabarczyk P., Forkel H. et al. Chemotherapeutics Used for High-Risk Neuroblastoma Therapy Improve the Efficacy of Anti-GD2 Antibody Dinutuximab Beta in Preclinical Spheroid Models. *Cancers (Basel)* 2023; 15 (3): 904. DOI: 10.3390/cancers15030904
10. Pinto N., Naranjo A., Hibbitts E., Kreissman S.G., Granger M.M., Irwin M.S., et al. Predictors of differential response to induction therapy in high-risk neuroblastoma: A report from the Children's Oncology Group (COG). *Eur J Cancer* 2019; 112: 66–79. DOI: 10.1016/j.ejca.2019.02.003
11. Шаманская Т.В., Качанов Д.Ю., Ядгаров М.Я. Оценка влияния ответа на индукционный этап терапии у пациентов с нейробластомой группы высокого риска на бессобытийную и общую выживаемость: систематический обзор и метаанализ. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2022; 21 (2): 141–56. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-2-141-156 [Shamanskaya T.V., Kachanov D.Yu., Yadgarov M.Ya. The impact of response to induction chemotherapy on the event-free and overall survival in patients with high-risk neuroblastoma: a systematic review and meta-analysis. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2022; 21 (2): 141–56. (In Russ.)].
12. Иванов Н.С., Качанов Д.Ю., Шаманская Т.В. Химиоиммунотерапия нейробластомы: текущие результаты и перспективы применения. *Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО)* 2023; 10 (2): 77–91. DOI: 10.21682/2311-1267-2023-10-2-77-91 [Ivanov N.S., Kachanov D.Yu., Shamanskaya T.V. Neuroblastoma chemoimmunotherapy: current results and application prospects. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2023; 10 (2): 77–91. (In Russ.)].
13. Lode H.N., Ladenstein R., Troschke-Meurer S., Struppe L., Siebert N., Zumpe M., et al. Effect and Tolerance of N5 and N6 Chemotherapy Cycles in Combination with Dinutuximab Beta in Relapsed High-Risk Neuroblastoma Patients Who Failed at Least One Second-Line Therapy. *Cancers (Basel)* 2023; 15 (13): 3364. DOI: 10.3390/cancers15133364
14. Brodeur G.M., Pritchard J., Berthold F., Carlsen N.L., Castel V., Castelberry R.P., et al. Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. *J Clin Oncol* 1993; 11 (8): 1466–77. DOI: 10.1200/JCO.1993.11.8.1466
15. Monclair T., Brodeur G.M., Ambros P.F., Brisse H.J., Cecchetto G., Holmes K., et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) staging system: an INRG Task Force report. *J Clin Oncol* 2009; 27 (2): 298–303. DOI: 10.1200/JCO.2008.16.6876

16. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5, US: Department of health and human services, National Institutes of Health, National Cancer Institute; 2017.
17. Garra G., Singer A.J., Taira B.R., Chohan J., Cardoz H., Chisena E., et al. Validation of the Wong-Baker FACES Pain Rating Scale in pediatric emergency department patients. *Acad Emerg Med* 2010; 17 (1): 50–4. DOI: 10.1111/j.1553-2712.2009.00620.x
18. Buttner W., Breikopf L., Miele B., Finke W. Initial results of the reliability and validity of a German-language scale for the quantitative measurement of postoperative pain in young children. *Anaesthesist* 1990; 39 (11): 593–602.
19. Balaguer J., García Hidalgo L., Hladun R., Márquez Vega C., Pérez Alonso V. Recent Evidence-Based Clinical Guide for the Use of Dinutuximab Beta in Pediatric Patients with Neuroblastoma. *Target Oncol* 2023; 18 (1): 77–93. DOI: 10.1007/s11523-022-00930-w
20. Mastrangelo S., Rivetti S., Triarico S., Romano A., Attinà G., Maurizi P., et al. Mechanisms, Characteristics, and Treatment of Neuropathic Pain and Peripheral Neuropathy Associated with Dinutuximab in Neuroblastoma Patients. *Int J Mol Sci* 2021; 22 (23): 12648. DOI: 10.3390/ijms222312648
21. Berthold F., Spix C., Kaatsch P., Lampert F. Incidence, Survival, and Treatment of Localized and Metastatic Neuroblastoma in Germany 1979–2015. *Paediatr Drugs* 2017; 19 (6): 577–93. DOI: 10.1007/s40272-017-0251-3
22. Yu A.L., Gilman A.L., Ozkaynak M.F., Naranjo A., Diccianni M.B., Gan J., et al. Long-Term Follow-up of a Phase III Study of ch14.18 (Dinutuximab) + Cytokine Immunotherapy in Children with High-Risk Neuroblastoma: COG Study ANBL0032. *Clin Cancer Res* 2021; 27 (8): 2179–89. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3909
23. DuBois S.G., Bagatell R. Improving Outcomes in Children with High-Risk Neuroblastoma: The Role of Randomized Trials. *J Clin Oncol* 2021; 39 (23): 2525–7. DOI: 10.1200/JCO.21.01066
24. Mody R., Yu A.L., Naranjo A., Zhang F.F., London W.B., Shulkin B.L., et al. Irinotecan, Temozolomide, and Dinutuximab with GM-CSF in Children with Refractory or Relapsed Neuroblastoma: A Report From the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2020; 38 (19): 2160–9. DOI: 10.1200/JCO.20.00203
25. Furman W.L., McCarville B., Shulkin B.L., Davidoff A., Krasin M., Hsu C.W., et al. Improved Outcome in Children with Newly Diagnosed High-Risk Neuroblastoma Treated with Chemoimmunotherapy: Updated Results of a Phase II Study Using hu14.18K322A. *J Clin Oncol* 2022; 40 (4): 335–44. DOI: 10.1200/JCO.21.01375
26. Cupit-Link M., Federico S.M. Treatment of High-Risk Neuroblastoma with Dinutuximab and Chemotherapy Administered in all Cycles of Induction. *Cancers (Basel)* 2023; 15 (18): 4609. DOI: 10.3390/cancers15184609
27. Federico S.M., Naranjo A., Zhang F., Marachelian A., Desai A.V., Shimada H., et al. A pilot induction regimen incorporating dinutuximab and sargramostim for the treatment of newly diagnosed high-risk neuroblastoma: A report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2022; 40 (16_suppl): 10003. DOI: 10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.10003
28. Ladenstein R., Pötschger U., Valteau-Couanet D., Luksch R., Castel V., Yaniv I., et al. Interleukin 2 with anti-GD2 antibody ch14.18/CHO (dinutuximab beta) in patients with high-risk neuroblastoma (HR-NBL1/SIOPEN): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2018; 19 (12): 1617–29. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30578-3
29. Mueller I., Ehlert K., Endres S., Pill L., Siebert N., Kietz S., et al. Tolerability, response and outcome of high-risk neuroblastoma patients treated with long-term infusion of anti-GD2 antibody ch14.18/CHO. *MAbs* 2018; 10 (1): 55–61. DOI: 10.1080/19420862.2017.1402997

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-119-126

Цитокиновый профиль кала недоношенных новорожденных в диагностике некротизирующего энтероколита: результаты пилотного исследования

Е.Е. Костерина¹, Е.Н. Балашова¹, А.М. Красный¹, А.Р. Киртбая^{1,2}, А.А. Рудакова¹, А.А. Садекова^{1,3}, В.В. Вторушина¹, Л.В. Кречетова¹, О.В. Ионов^{1,2,4}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

²ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

³Научно-исследовательский институт молекулярной и клеточной медицины ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

⁴ГБУЗ МО «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области», Москва

Цель исследования: определить уровень фекальных цитокинов у глубоко недоношенных новорожденных при развитии неспецифических клинических проявлений некротизирующего энтероколита (НЭК) и дискинезии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Исследование одобрено этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Информированное согласие об участии в исследовании было получено от родителей всех пациентов. Исследование проведено на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России в период с июня 2020 г. по декабрь 2022 г. Образцы кала недоношенных новорожденных гестационного возраста 32 недели и менее, проходивших лечение в отделении реанимации и интенсивной терапии им. проф. А.Г. Антонова, собирались ежедневно на протяжении первых 14 дней жизни. Для анализа были выбраны образцы от 46 новорожденных: образцы кала в день возникновения эпизода инtolерантности к энтеральной нагрузке и контрольные образцы кала новорожденных, не развивших неспецифические клинические проявления НЭК и дискинезии ЖКТ, соответствующие дню достижения объема энтерального питания 100 мл/кг/сут. Ретроспективно по результатам диагностики НЭК и дискинезии ЖКТ образцы кала были разделены на 3 группы: группа НЭК ($n = 8$), группа дискинезии ЖКТ ($n = 14$) и группа контроля ($n = 24$). В образцах кала глубоко недоношенных новорожденных с НЭК II стадии и выше в день возникновения начальных симптомов заболевания отмечается значимое повышение уровней IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α . При этом цитокиновый профиль кала новорожденных из группы дискинезии ЖКТ достоверно не отличался от группы контроля ни по одному показателю. При развитии НЭК на стадии возникновения инtolерантности к энтеральному питанию в кале выявляются высокие уровни IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- α , что может свидетельствовать о перспективности метода определения про- и противовоспалительного профиля цитокинов кала в дифференциальной диагностике НЭК и дискинезии ЖКТ у глубоко недоношенных новорожденных. **Ключевые слова:** недоношенный новорожденный, энтеральное питание, очень низкая масса тела, экстремально низкая масса тела, некротизирующий энтероколит, фекальные цитокины

Костерина Е.Е. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 119–26. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-119-126

Fecal cytokine profile in preterm infants in the diagnosis of necrotizing enterocolitis: pilot study results

Е.Е. Kosterina¹, Е.Н. Balashova¹, А.М. Krasnyi¹, А.Р. Kirtbaya^{1,2}, А.А. Rudakova¹, А.А. Sadekova^{1,3}, В.В. Vtorushina¹, Л.В. Krechetova¹, О.В. Ionov^{1,2,4}

¹National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after the Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²The I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (the Sechenov University), Moscow

³Research Institute of Molecular and Cellular Medicine of the Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

⁴Research Clinical Institute of Childhood of the Ministry of Healthcare of the Moscow Region, Moscow

In this study, we sought to determine fecal cytokine levels in very preterm newborns at the onset of non-specific clinical symptoms of necrotizing enterocolitis (NEC) and decreased gastrointestinal (GI) motility. The study was approved by the Ethics Committee and the Scientific Council of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after the Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Each patient's parents gave their informed consent to their child's participation in the study. The study was conducted at the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after the Academician V.I. Kulakov over the period from June 2020 to December 2022. Fecal samples from preterm neonates with gestational age ≤ 32 weeks treated at the A.G. Antonov ICU were collected daily over their first 14 days of life. Samples from 46 newborns were selected for analysis: fecal samples collected on the day of an enteral feeding intolerance episode and fecal samples from controls who had not developed non-specific clinical symptoms of NEC or decreased GI motility, collected on the day when enteral intake reached 100 ml/kg/day. Based on the results of NEC and decreased GI motility diagnosis, stool samples were retrospectively divided into 3 groups: an NEC group ($n = 8$), a decreased GI motility group ($n = 14$) and a control group ($n = 24$). In the fecal samples of the very preterm newborns with NEC stage \geq II, there was a significant increase in IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α levels at the onset of initial symptoms of the disease. At the same

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 05.12.2023

Принята к печати 16.01.2024



EDN: NBGDCZ

Контактная информация:

Костерина Екатерина Евгеньевна, врач-анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии им. проф. А.Г. Антонова Института неонатологии и педиатрии ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
E-mail: kosterinka@list.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPO»

Received 05.12.2023

Accepted 16.01.2024

Correspondence:

Ekaterina E. Kosterina, anesthesiologist-intensivist at the A.G. Antonov Intensive Care Unit of the Institute of Neonatology and Pediatrics, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after the Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina St., Moscow 117997, Russia
E-mail: kosterinka@list.ru

time, the cytokine profile of the feces of the decreased GI motility patients did not differ significantly from the control group in any of the parameters. In cases of NEC, high IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α levels were detected in the patients' stool at the onset of enteral feeding intolerance, suggesting that the method under investigation (aimed at determining the pro- and anti-inflammatory profile of fecal cytokines) may be a promising new tool for differentiating NEC from decreased GI motility in very preterm newborns.

Key words: *preterm newborn, enteral feeding, premature newborns, very low birth weight, extremely low birth weight, necrotizing enterocolitis, fecal cytokines*

Kosterina E.E., et al. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2024; 23 (1): 119–26.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-119-126

Некротизирующий энтероколит (НЭК) – воспалительное заболевание кишечника, возникающее в основном у недоношенных новорожденных детей, занимает одну из лидирующих позиций в структуре неонатальной смертности. Среди глубоко недоношенных новорожденных с экстремально и очень низкой массой тела летальность от НЭК достигает 30–50% и 10–30% соответственно и не имеет тенденции к снижению в последние 20 лет [1]. Неспецифичность первых клинических проявлений, быстрое прогрессирование заболевания в сочетании с высоким уровнем смертности определяют особую актуальность исследований, посвященных поиску эффективных биомаркеров повреждения кишечника. Своевременная диагностика на этапе неспецифичных клинических проявлений и, соответственно, раннее патогенетическое лечение имеют решающее значение для выживания глубоко недоношенных новорожденных.

Цитокины являются эндогенными химическими медиаторами, которые регулируют воспалительный ответ, включая хемотаксис нейтрофилов, пролиферацию и дифференцировку эпителиальных клеток, а также восстановление после повреждения слизистой оболочки [2]. По данным литературы, сывороточный уровень цитокинов не только достоверно коррелирует с НЭК и сепсисом [3–5], но и отражает тяжесть течения НЭК [6, 7].

Изучению цитокинового профиля кала новорожденного как органоспецифичного маркера повреждения кишечника в отличие от сывороточного профиля посвящены единичные работы, а их данные противоречивы [8, 9].

Так, J. Lemme-Dumit и соавт. провели анализ фекальных цитокинов 40 глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от специфических изменений микробиоты кишечника и созревания кишечного барьера [10]. M. Gomez и соавт. исследовали иммунный профиль кала 16 недоношенных новорожденных, включая уровень цитокинов, в зависимости от возраста (меконий, 21 день, 2 года) и микробной ассоциации [9]. M. Richter и соавт. изучали концентрацию TNF- α в кале доношенных и недоношенных новорожденных в зависимости от субстрата вскармливания [11].

Часть исследователей использовали цитокиновый профиль кала как маркер состояния кишечной стенки

в целях оценки безопасности и эффективности применения различных интервенционных методик. Так, F. Indrio и соавт. отметили, что раннее применение пробиотиков вызывало снижение фекальных провоспалительных цитокинов IL-17, IL-8 и TNF- α и увеличение противовоспалительного цитокина IL-10 [12]. Исследование, проведенное B. Balachandran и соавт., продемонстрировало тенденцию к увеличению фекального IL-6 у недоношенных детей, получавших коровье молоко [13].

Тем не менее ряд авторов признают неоспоримое преимущество цитокинового профиля кала как маркера повреждения кишечной стенки и активации местного воспалительного ответа в виде не только очевидной органоспецифичности, но и возможности неинвазивной диагностики различных воспалительных заболеваний кишечника [10, 12, 14].

Целью данного исследования является определение уровня фекальных цитокинов у глубоко недоношенных новорожденных при развитии неспецифичных клинических проявлений НЭК и дискинезии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России в период с июня 2020 г. по декабрь 2022 г. Исследование одобрено этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Информированное согласие об участии в исследовании было получено от родителей всех пациентов.

Образцы кала недоношенных новорожденных гестационного возраста (ГВ) 32 недели и менее, проходивших лечение в отделении реанимации и интенсивной терапии им. проф. А.Г. Антонова в период с июня 2020 г. по декабрь 2022 г., собирались ежедневно на протяжении первых 14 дней жизни.

Критериями исключения являлись наследственная патология обмена веществ, отечная форма гемолитической болезни, множественные врожденные пороки развития, летальный исход до начала энтерального питания (ЭП).

Неспецифичными клиническими проявлениями НЭК и дискинезии ЖКТ являлись вздутие и напряжение живота, болезненность при пальпации,

обильное срыгивание, увеличение объема остаточного содержимого желудка более 50% от разового объема кормления, темно-зеленое окрашивание желудочного аспирата.

Новорожденным с клиническими проявлениями НЭК и дискинезии ЖКТ проводилось стандартное обследование для установки диагноза: клинический анализ крови, сывороточные маркеры воспаления (С-реактивный белок, уровень прокальцитонина), ультразвуковое исследование органов брюшной полости, обзорная рентгенограмма брюшной полости.

Диагноз НЭК устанавливался при выявлении лабораторных признаков системного воспалительного ответа в сочетании с инструментальными признаками: ультразвуковыми – в виде участков отека, ригидности, пневматоза кишечной стенки, асцита, газа в сосудах системы воротной вены печени; рентгенологическими – парез кишечника с отеком стенки, пневматоз, газ по ходу ветвей воротной вены, пневмоперитонеум [15]. Оценка тяжести течения НЭК проводилась по шкале Bell [16].

Диагноз дискинезии ЖКТ устанавливался при наличии признаков интолерантности к энтеральной нагрузке, требующей полной отмены ЭП на срок более 24 ч, но не диагностированной как НЭК II и III стадии по Bell.

Все образцы были заморожены сразу после взятия пробы кала при температуре -80°C и хранились в лаборатории биобанка. Всего было собрано 356 образцов. Определение концентрации цитокинов IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- γ и TNF- α проводили мультиплексным методом с использованием стандартной 8-плексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine 8-plex Assay (Bio-Rad, США) на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200 System (Bio-Rad, США). Результаты обрабатывали с помощью приложения Bio-Plex Manager 6.0 Properties (Bio-Rad, США). Непосредственно перед исследованиями образцы кала новорожденных размораживали на льду. Далее отбирали 0,1 г образца, в который добавляли 0,9 г ледяного раствора BPS. После этого полученный раствор гомогенизировался при помощи вортексирования. Все процедуры проводили на льду. Далее гомогенизированный раствор центрифугировали 15 000g 15 мин при температуре 4°C . Отобранный супернатант использовали в мультиплексном анализе. Содержание цитокинов представлено в пикограммах на миллилитр (пг/мл).

Для анализа были выбраны образцы от 46 новорожденных: образцы кала в день возникновения эпизода интолерантности к энтеральной нагрузке (период от взятия пробы кала до возникновения эпизода интолерантности не более 36 ч) и сравнительные образцы кала у новорожденных, не развивших неспецифичные клинические проявления НЭК и дискинезии ЖКТ,

соответствующие дню достижения объема энтерального питания 100 мл/кг/сут.

Ретроспективно по результатам диагностики НЭК и дискинезии ЖКТ образцы кала были разделены на 3 группы: 1-я группа – пациенты с НЭК ($n = 8$), 2-я группа – новорожденные с дискинезией ЖКТ ($n = 14$) и 3-я – группа контроля ($n = 24$).

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы IBM SPSS Statistics v26 и StatTech v2.8.3. Перед проведением сравнительного анализа количественных данных в исследуемых группах проверяли соответствие нормальному распределению (тест Колмогорова–Смирнова, графический анализ данных). Учитывая полученное ненормальное распределение, статистический анализ проводился непараметрическим методом. Количественные переменные для каждого параметра представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (IQR) 25–75-го перцентилей. Для качественных данных определяли показатель частоты (%).

Для сравнения количественных данных в нескольких группах использовался критерий Краскела–Уоллиса, при последующем попарном сравнении применялся U-критерий Манна–Уитни с поправкой на множественность Бонферрони. Сравнение дихотомических данных и установление статистически значимых различий между ними проводили с помощью метода χ^2 Пирсона (для его вычисления прибегали к построению таблицы 2×2), а также использовали точный критерий Фишера для небольших выборок. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследуемые группы достоверно отличались по массе тела, что объясняется большей распространенностью НЭК у детей с меньшей массой тела при рождении. Характеристика групп пациентов, включенных в исследование, представлена в *таблице 1*.

В 1-й группе ($n = 8$) НЭК диагностирован II–III стадий. Распределение по стадиям отражено на *рисунке 1*.

Уровни цитокинов кала в группах НЭК и дискинезии ЖКТ в день развития интолерантности к ЭП и в группе контроля (достижение объема ЭП 100 мл/кг) представлены в *таблице 2* и на *рисунке 2*.

Достоверно отличались концентрации IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- α . Наибольшие различия наблюдались в концентрациях IL-8 и TNF- α , в группе НЭК медиана превышает значения группы контроля и группы дискинезии ЖКТ больше чем в 21 и 12 раз соответственно. Медиана концентрации IFN- γ при развитии НЭК аналогично превышает значения группы сравнения более чем в 5 раз, однако различия между

Таблица 1
Характеристика групп исследования

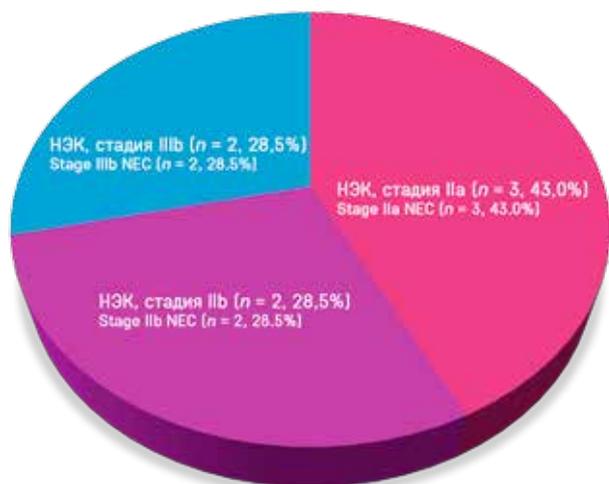
Table 1
Characteristics of the study groups

Параметр Parameter	Группа НЭК (1-я; n = 8) NEC group (#1; n = 8)	Группа дискинезии ЖКТ (2-я; n = 14) Decreased GI motility group (#2; n = 14)	Группа сравнения (3-я; n = 24) Control group (#3; n = 24)	p
ГВ, Ме (IQR), недели GA, Me (IQR), weeks	30,5 (27,0–31,6)	30,4 (28,5–31,5)	30,6 (30,0–31,5)	0,555
Масса тела, Ме (IQR), г Body weight, Me (IQR), g	720 (551–1149)	1083 (950–1460)	1615 (1177–1765)	0,001* $p_{1-2} = 0,096$ $p_{2-3} = 0,013*$ $p_{1-3} = 0,001*$
Длина, Ме (IQR), см Body length, Me (IQR), cm	32,5 (30,0–33,8)	35,3 (33,0–37,5)	36,7 (35,8–38,7)	0,06
Пол, мальчики/девочки, n Gender, boys/girls, n	4/4	8/6	11/13	0,354

Примечание. Здесь и в таблице 2: различия показателей значимы по критерию Краскелла–Уоллиса при $p < 0,05$, при апостериорном анализе в попарных сравнениях использовали критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони, различия признавали значимыми при $p < 0,017$.
Notes. Here and in Table 2: the values differ significantly at $p < 0,05$ according to the Kruskal–Wallis test; in a post-hoc analysis, Mann–Whitney test with Bonferroni correction was used for pairwise comparison, differences were considered significant at $p < 0,017$. NEC – necrotizing enterocolitis; GI – gastrointestinal; GA – gestational age; Me – median; IQR – interquartile range.

Рисунок 1
Распределение случаев НЭК по тяжести согласно классификации Bell

Figure 1
Distribution of NEC cases according to disease severity classified using Bell criteria



3 группами не были достоверными, что, вероятно, обусловлено малым размером выборки. При этом цитокиновый профиль кала новорожденных группы дискинезии ЖКТ достоверно не отличался от группы контроля ни по одному показателю.

Также достоверно отличалось в исследуемых группах соотношение IL-10/IL-8 как показатель соотношения про- и противовоспалительных цитокинов: в группе контроля концентрация IL-10 в 2 раза превышает концентрацию IL-8, в группе дискинезии ЖКТ соотношение практически равное. При развитии НЭК резко возрастает концентрация IL-8, что демонстрирует снижение соотношения (рисунок 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Незрелость иммунной системы и ЖКТ может играть ключевую роль в восприимчивости недоно-

шенных детей к инфекциям. Ткани кишечника человека содержат разнообразную популяцию основных иммунных клеток, расположение, взаимодействие и функция которых контролируются опосредованными клеточными контактами, а также различными цитокинами и медиаторами [17]. Цитокины играют стимулирующую роль, способствуя созреванию слизистой оболочки у недоношенных детей, однако они могут приводить к повреждению кишечника при НЭК, способствуя развитию воспаления [6]. Состав и количество цитокинов и хемокинов у недоношенных новорожденных остаются в значительной степени неохарактеризованными, что оставляет значительный пробел в понимании раннего созревания кишечного барьера [4]. Анализ иммунологических биомаркеров традиционно включает тестирование крови или сыворотки. Такой метод является инвазивным и ограничивается циркулирующими уровнями иммунных маркеров, что ценно для оценки системного иммунитета, но не репрезентативно для воспалительного процесса, локализованного в кишечной стенке [10]. Профилирование цитокинов кала может дать представление о состоянии слизистой оболочки кишечника. Хотя этот подход не может полностью воспроизвести иммунологические процессы, происходящие в тканях кишечника, включая взаимодействие с микробами, он обеспечивает разумную и практическую альтернативу инвазивным методам диагностики.

Нами получены достоверные результаты, демонстрирующие значимое повышение уровней IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α у глубоко недоношенных новорожденных с НЭК II стадии и выше в образцах кала в день возникновения начальных симптомов заболевания.

Аналогичные результаты получены E. Westerbeek и соавт. [18] в исследовании, включавшем 113 новорожденных ГВ менее 32 недель и массой тела при рождении менее 1500 г. Авторами были изучены

Таблица 2

Цитокиновый профиль в исследуемых группах на момент возникновения интолерантности к ЭП

Table 2

Cytokine profile in the study groups at the onset of enteral feeding intolerance

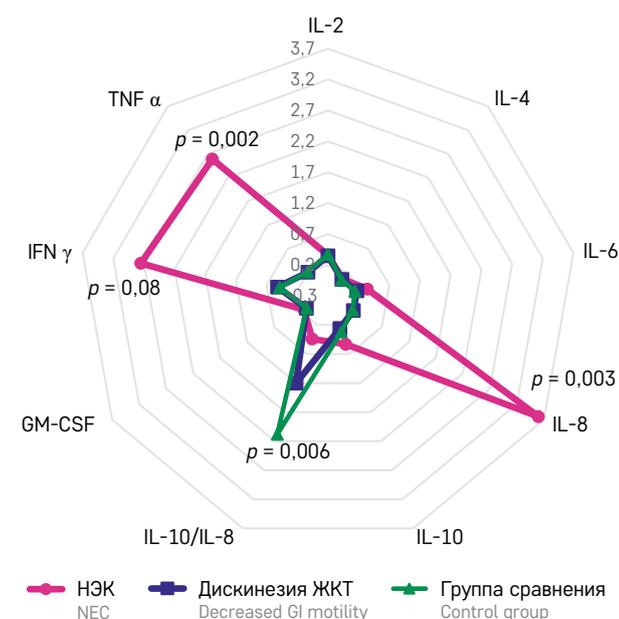
Параметр Parameter	Группа НЭК (1-я; n = 8) NEC group (#1; n = 8)	Группа дискинезии ЖКТ (2-я; n = 14) Decreased GI motility group (#2; n = 14)	Группа контроля (3-я; n = 24) Control group (#3; n = 24)	p	p (попарное сравнение) p (pairwise comparison)
IL-2, Ме (IQR), пг/мл IL-2, Me (IQR), pg/ml	0,36 (0,27–0,45)	0,35 (0,27–0,48)	0,37 (0,33–0,47)	0,7	$p_{1-2} = 0,54$ $p_{2-3} = 0,44$ $p_{1-3} = 0,96$
IL-4, Ме (IQR), пг/мл IL-4, Me (IQR), pg/ml	0,06 (0,062–0,16)	0,049 (0,0043–0,0074)	0,04 (0,0037–0,062)	0,059	$p_{1-2} = 0,044$ $p_{2-3} = 0,64$ $p_{1-3} = 0,025$
IL-6, Ме (IQR), пг/мл IL-6, Me (IQR), pg/ml	0,34 (0,25–1,3)	0,17 (0,011–0,36)	0,14 (0,13–0,38)	0,047*	$p_{1-2} = 0,04$ $p_{2-3} = 1,0$ $p_{1-3} = 0,016*$
IL-8, Ме (IQR), пг/мл IL-8, Me (IQR), pg/ml	3,6 (0,3–610,8)	0,17 (0,16–0,25)	0,16 (0,14–0,17)	0,003*	$p_{1-2} = 0,02$ $p_{2-3} = 0,082$ $p_{1-3} = 0,002*$
IL-10, Ме (IQR), пг/мл IL-10, Me (IQR), pg/ml	0,53 (0,38–0,78)	0,26 (0,11–0,38)	0,32 (0,14–0,43)	0,039*	$p_{1-2} = 0,026$ $p_{2-3} = 0,482$ $p_{1-3} = 0,022$
IL-10/IL-8, Ме (IQR)	0,44 (0,003–1,07)	1,2 (0,47–1,97)	2,08 (0,7–2,59)	0,006*	$p_{1-2} = 0,076$ $p_{2-3} = 0,11$ $p_{1-3} = 0,002*$
GM-CSF, Ме (IQR), пг/мл GM-CSF, Me (IQR), pg/ml	0,146 (0,069–2,3)	0,1 (0,08–0,61)	0,095 (0,084–0,11)	0,579	$p_{1-2} = 0,6$ $p_{2-3} = 0,46$ $p_{1-3} = 0,39$
IFN- γ , Ме (IQR), пг/мл IFN- γ , Me (IQR), pg/ml	2,75 (0,5–5,6)	0,52 (0,21–2,11)	0,49 (0,29–0,56)	0,081	$p_{1-2} = 0,08$ $p_{2-3} = 0,86$ $p_{1-3} = 0,025$
TNF- α , Ме (IQR), пг/мл TNF- α , Me (IQR), pg/ml	2,59 (0,81–11,3)	0,2 (0,16–0,42)	0,21 (0,17–0,38)	0,002*	$p_{1-2} = 0,003*$ $p_{2-3} = 0,89$ $p_{1-3} = 0,001*$

Рисунок 2

Уровни цитокинов в кале у глубоко недоношенных новорожденных с НЭК и дискинезией ЖКТ по сравнению с контрольной группой

Figure 2

Cytokine levels in the feces of the very preterm newborns with NEC and decreased GI motility compared to the control group



фекальные уровни IL-8 и кальпротектина в динамике на 7, 14 и 30-е сутки жизни. Недоношенные новорожденные, у которых развился НЭК, имели значительно повышенные уровни IL-8. Необходимо отметить, что

повышение уровня IL-8 соответствовало увеличению фекального кальпротектина – маркеру, доказавшему свою эффективность для диагностики НЭК. Помимо этого, более высокие уровни IL-8 отмечались у детей меньшего ГВ, с низкой массой при рождении, а также при наличии инфекционного процесса. При этом авторы не указывают о временной взаимосвязи между возникновением НЭК и изменениями уровней фекальных цитокинов. Патогенетически повышенные уровни IL-8 могут отражать увеличение количества нейтрофилов и моноцитов в просвете кишечника и могут быть частично объяснены повышенной проницаемостью кишечной стенки у недоношенных детей [18].

С. Zenner и соавт. получили данные о повышении уровня большого спектра фекальных цитокинов в группах новорожденных с НЭК I стадии и НЭК II–III стадии по сравнению с группой контроля (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IFN- γ) [14]. Наибольшее значение для диагностики НЭК II–III стадии имели IL-4, IL-6 и IL-10 в образцах, собранных за 5–10 дней до манифестации НЭК.

Повышение уровней IL-6 и TNF- α в крови новорожденных с НЭК неоднократно описано в литературе [5, 19, 20], в то время как о фекальном уровне этих цитокинов подобных данных нет. Ассоциация изменений уровней этих цитокинов, вероятно, обусловлена иммунологической взаимосвязью. TNF- α , продуцируемый мононуклеарными клетками, играет

ключевую роль в стимуляции воспаления, включая продукцию IL-1 и IL-6, пролиферацию фибробластов, экспрессию молекул адгезии [21]. Определено, что грамотрицательные бактерии, такие как кишечная палочка, связываются с трансмембранным белком TLR4 на эпителии кишечника, что приводит к опосредованному через NF-κB высвобождению IL-6, IL-1β, TNF-α наряду с оксидом азота, а также IL-17 и IL-22 [22]. При этом избыток TNF-α изменяет целостность эпителия, индуцируя апоптоз в эпителиальных кишечных клетках, ослабляя барьерную функцию [23], что может провоцировать миграцию микробов через эпителий и приводить к развитию НЭК [11]. Так, обнаружено, что TNF-α повышен в биопсийных материалах тканей кишечника пациентов с НЭК [24]. L. Hui и соавт. представили доказательства того, что экспрессия TNF-α в резецированных образцах кишечника с помощью иммуногистохимии была повышена у новорожденных пациентов с НЭК ГВ 28–29 недель по сравнению с контрольной группой, перенесшей операцию по поводу атрезии кишечника [25].

Также доказано значение повышенного уровня TNF-α в генезе воспалительных заболеваний кишечника у взрослых (язвенный НЭК и болезнь Крона) [26]. Помимо этого, терапия анти-TNF-препаратами этих заболеваний широко распространена и эффективна [27]. В исследовании С. Тауман и соавт. введение анти-TNF-препарата (инфликсимаб) значительно уменьшило воспаление кишечника и повреждение тканей в модели НЭК у крыс, что делает его потенциальной мишенью не только для диагностики, но и для терапии НЭК [28].

Кроме этого, M. Richter и соавт. отмечают, что способ родоразрешения, прием антибиотиков, а также субстрат питания не влияли на концентрацию TNF-α в кале [11]. Эти особенности подчеркивают диагностическую ценность фекального TNF-α как маркера повреждения кишечной стенки.

IL-10 оказывает противовоспалительное регулирующее действие, его повышение может свидетельствовать об усилении фазы иммунного ответа, характеризующей снижением интенсивности воспалительных реакций, обуславливающих развитие НЭК. С. Zenner и соавт. отмечают повышение уровня IL-10 в образцах кала, собранных за 5–10 дней до манифестации НЭК [14]. Y. Seo и соавт. получили аналогичные данные о повышении сывороточного уровня IL-10 при НЭК, не потребовавшего хирургического лечения. Авторы предполагают, что повышенная продукция IL-10 может играть протективную роль, уменьшая степень воспаления кишечника, тем самым препятствуя прогрессированию НЭК и уменьшая необходимость хирургического вмешательства. Исследования на животных показали, что у мышей с дефицитом IL-10 чаще развивался энтероколит

[18], и дефицит IL-10 усугублял степень воспаления кишечника, сопровождающего НЭК [29].

Помимо этого, полученные нами данные демонстрируют отсутствие влияния дискинезии ЖКТ на цитокиновый профиль кала. Показатели пациентов группы дискинезии ЖКТ достоверно не отличались от группы контроля ни по одному показателю. Это позволит проводить дифференциальную диагностику между НЭК и интолерантностью к энтеральной нагрузке другого генеза, в том числе инфекционного, но без прямого вовлечения кишечника. К аналогичным выводам пришли E. Westerbeek и соавт.: показатели фекального IL-8 были значительно выше у детей с НЭК, чем у детей с инфекционным процессом другой локализации [18]. Однако, по данным С. Zenner и соавт., возможно проведение дифференциальной диагностики между НЭК I стадии и НЭК II–III стадии по уровню фекальных IL-1α, IL-10 и IL-5 [14].

Нами выявлено достоверное изменение соотношения IL-10/IL-8 между всеми 3 группами пациентов, отражающие дисбаланс в системе про- и противовоспалительных цитокинов. В группе сравнения концентрация противовоспалительного IL-10 в 2 раза превышает концентрацию провоспалительного IL-8, в группе дискинезии ЖКТ соотношение приближается к единице, а при развитии НЭК резко возрастает концентрация провоспалительного цитокина IL-8, что приводит к снижению соотношения. E. Конникова и соавт. также использовали это соотношение для характеристики реактивности кишечной стенки глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от времени начала ЭП [30]. По их результатам, позднее начало ЭП (после 3-х суток жизни) ассоциировано с воспалением кишечника и повышением фекальных маркеров, а именно IL-8, и значительным снижением соотношения IL-10/IL-8.

Преимуществом нашего исследования является изучение цитокинового профиля кала в период возникновения интолерантности к ЭП, что особенно актуально для ранней диагностики НЭК. Кроме того, цитокиновый профиль возможно использовать в дифференциальной диагностике дискинезии ЖКТ и НЭК, что, в свою очередь, позволит сократить неоправданное назначение антибиотиков на этапе развития интолерантности к ЭП, расцененного как подозрение на развитие НЭК.

Ограничением проведенного нами пилотного исследования является малый объем выборки. В настоящее время продолжается набор пациентов в исследование. В перспективе развития данной темы представляют интерес параллельное исследование фекальных и сывороточных цитокинов, зависимость уровня цитокинов кала от субстрата ЭП и изучение

взаимоотношения микробной колонизации ЖКТ новорожденного и цитокинового профиля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при развитии НЭК на стадии возникновения интолерантности к ЭП в кале определяются высокие уровни IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- α в отличие от дискинезии ЖКТ, что может свидетельствовать о перспективности метода определения про- и противовоспалительного профиля цитокинов кала в дифференциальной диагностике НЭК и дискинезии ЖКТ при возникновении интолерантности к ЭП у глубоко недоношенных новорожденных.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено в рамках государственного задания, регистрационный номер НИОКТР: 121040600433-6 «Совершенствование подходов к энтеральному питанию глубоко недоношенных детей».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Kosterina E.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2058-1864>

Balashova E.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3741-0770>

Krasnyi A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7883-2702>

Kirtbaya A.R. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7628-8157>

Rudakova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2105-8909>

Sadekova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4726-7477>

Vtorushina V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8406-3206>

Krechetova L.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5023-3476>

Ionov O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4153-133X>

Литература

1. Fitzgibbons S.C., Ching Y., Yu D., Carpenter J., Kenny M., Weldon C., et al. Mortality of necrotizing enterocolitis expressed by birth weight categories. *J Pediatr Surg* 2009; 44 (6): 1072–5; discussion 1075–6. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2009.02.013
2. MohanKumar K., Namachivayam K., Ho T.T.B., Torres B.A., Ohls R.K., Maheshwari A. Cytokines and growth factors in the developing intestine and during necrotizing enterocolitis. Vol. 41, *Seminars in Perinatology*. W.B. Saunders; 2017. Pp. 52–60.
3. Lodha A., Howlett A., Ahmed T., Moore A.M. The Role of Interleukin-6 and Interleukin-8 Circulating Cytokines in Differentiating between Feeding Intolerance and Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants. *Am J Perinatol* 2017; 34 (13): 1286–92. DOI: 10.1055/s-0037-1603329
4. Benkoe T.M., Mechtler T.P., Weninger M., Pones M., Rebhandl W., Kasper D.C. Serum levels of interleukin-8 and gut-associated biomarkers in diagnosing necrotizing enterocolitis in preterm infants. *J Pediatr Surg* 2014; 49 (10): 1446–51. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2014.03.012
5. Martin C.R., Bellomy M., Allred E.N., Fichorova R.N., Leviton A. Systemic inflammation associated with severe intestinal injury in extremely low gestational age newborns. *Fetal Pediatr Pathol* 2013; 32 (3): 222–34. DOI: 10.3109/15513815.2012.721477
6. Seo Y.-mi, Lin Y.K., Im S.A., Sung I.K., Youn Y.A. Interleukin 8 may predict surgical necrotizing enterocolitis in infants born less than 1500 g. *Cytokine* 2021; 137: 155–63. DOI: 10.1016/j.cyto.2020.155343
7. Wisgrill L., Weinhandl A., Unterasinger L., Amann G., Oehler R., Metzelder M.L., et al. Interleukin-6 serum levels predict surgical intervention in infants with necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2019; 54 (3): 449–54. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2018.08.003
8. Duffy L.C., Zielezny M.A., Carrion V., Griffiths E., Dryja D., Hilty M., et al. Concordance of bacterial cultures with endotoxin and interleukin-6 in necrotizing enterocolitis. *Dig Dis Sci* 1997; 42 (2): 359–65. DOI: 10.1023/a:1018826204819
9. Gómez M., Moles L., Espinosa-Martos I., Bustos G., de Vos W.M., Fernández L., et al. Bacteriological and Immunological Profiling of Meconium and Fecal Samples from Preterm Infants: A Two-Year Follow-Up Study. *Nutrients* 2017; 9 (12): 1293. DOI: 10.3390/nu9121293
10. Lemme-Dumit J.M., Song Y., Lwin H.W., Hernandez-Chavez C., Sundararajan S., Viscardi R.M., et al. Altered Gut Microbiome and Fecal Immune Phenotype in Early Preterm Infants With Leaky Gut. *Front Immunol* 2022; 13: 815046. DOI: 10.3389/fimmu.2022.815046
11. Richter M., Topf H.G., Gröschl M., Fröhlich T., Tzschoppe A., Wenzl T.G., Köhler H. Influence of gestational age, cesarean section, and type of feeding on fecal human β -defensin 2 and tumor necrosis factor- α . *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 51 (1): 103–5. DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181cd26f9
12. Indrio F., Riezzo G., Tafuri S., Ficarella M., Carlucci B., Bisceglia M., et al. Probiotic supplementation in preterm: Feeding intolerance and hospital cost. *Nutrients* 2017; 9 (9): 965. DOI: 10.3390/nu9090965
13. Balachandran B., Dutta S., Singh R., Prasad R., Kumar P. Bovine colostrum in prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in very low birth weight neonates: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial. *J Trop Pediatr* 2017; 63 (1): 10–7. DOI: 10.1093/tropej/fmw029
14. Zenner C., Chalklen L., Adjei H., Dalby M.J., Mitra S., Cornwell E., et al. Noninvasive Fecal Cytokine and Microbiota Profiles Predict Commencement of Necrotizing Entero-

- colitis in a Proof-of-Concept Study. *Gastro Hep Adv* 2023; 2 (5): 666–75. DOI: 10.1016/j.gastha.2023.03.003
15. Дорофеева Е.И., Подуровская Ю.Л., Буров А.А., Рюмина И.И., Нароган М.В., Грошева Е.В. и др. Диагностика и консервативное лечение новорожденных с некротизирующим энтероколитом (проект клинических рекомендаций). *Неонатология: Новости. Мнения. Обучение* 2014; 2 (4): 84–92. [Dorofeyeva E.I., Podurovskaya Yu.L., Burov A.A., Ryumina I.I., Narogan M.V., Grosheva E.V., et al. Diagnosis and conservative treatment of necrotizing enterocolitis in newborn (project of clinical practice guidelines). *Neonatology: News, Opinions, Training* 2014; 2 (4): 84–92. (In Russ.)].
 16. Walsh M.C., Kliegman R.M. Necrotizing enterocolitis: Treatment based on staging criteria. *Pediatr Clin North Am* 1986; 33 (1): 179–201. DOI: 10.1016/s0031-3955(16)34975-6
 17. van Belkum M., Mendoza Alvarez L., Neu J. Preterm neonatal immunology at the intestinal interface. *Cell Mol Life Sci* 2020; 26 (7):1209–27. DOI: 10.1007/s00018-019-03316-w
 18. Westerbeek E.A.M., Mørch E., Lafeber H.N., Fetter W.P.F., Twisk J.W.R., van Elburg R.M. Effect of Neutral and Acidic Oligosaccharides on Fecal IL-8 and Fecal Calprotectin in Preterm Infants. 2011. [Electronic resource] URL: www.controlled-trials.com (accessed 02.02.2024).
 19. Harris M.C., D'Angio C.T., Gallagher P.R., Kaufman D., Evans J., Kilpatrick L. Cytokine elaboration in critically ill infants with bacterial sepsis, necrotizing enterocolitis, or sepsis syndrome: Correlation with clinical parameters of inflammation and mortality. *J Pediatr* 2005; 147 (4): 462–8. DOI: 10.1016/j.jpeds.2005.04.037
 20. Ebach D.R., Newberry R., Stenson W.F. Differential Role of Tumor Necrosis Factor Receptors in TNBS Colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11 (6): 533–40. DOI: 10.1097/01.mib.0000163698.34592.30
 21. Tatiya-Aphiradee N., Chatuphonprasert W., Jarukamjorn K. Immune response and inflammatory pathway of ulcerative colitis. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2018; 30 (1): 1–10. DOI: 10.1515/jbcpp-2018-0036
 22. Duess J.W., Sampah M.E., Lopez C.M., Tsuboi K., Scheese D.J., Sodhi C.P., Hackam D.J. Necrotizing enterocolitis, gut microbes, and sepsis. *Gut Microbes* 2023; 15 (1): 2221470. DOI: 10.1080/19490976.2023.2221470
 23. Pott J., Kabat A.M., Maloy K.J. Intestinal Epithelial Cell Autophagy Is Required to Protect against TNF-Induced Apoptosis during Chronic Colitis in Mice. *Cell Host Microbe* 2018; 23 (2): 191–202.e4. DOI: 10.1016/j.chom.2017.12.017
 24. Baregamian N., Song J., Bailey C.E., Papaconstantinou J., Evers B.M., Chung D.H. Tumor Necrosis Factor- α and Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1 Control Reactive Oxygen Species Release, Mitochondrial Autophagy and C-Jun N-Terminal Kinase/P38 Phosphorylation During Necrotizing Enterocolitis. *Oxid Med Cell Longev* 2009; 2 (5): 297–306. DOI: 10.4161/oxim.2.5.9541
 25. Hui L., Dai Y., Guo Z., Zhang J., Zheng F., Bian X., et al. Immunoregulation effects of different $\gamma\delta$ T cells and toll-like receptor signaling pathways in neonatal necrotizing enterocolitis. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96 (8): e6077. Doi: 10.1097/MD.0000000000006077
 26. Friedrich M., Pohin M., Powrie F. Cytokine Networks in the Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Immunity* 2019; 50 (4): 992–1006. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.017
 27. Gareb B., Otten A.T., Frijlink H.W., Dijkstra G., Kosterink J.G.W. Review: Local Tumor Necrosis Factor- α Inhibition in Inflammatory Bowel Disease. *Pharmaceutics* 2020; 12 (6): 539. DOI: 10.3390/pharmaceutics12060539
 28. Tayman C., Aydemir S., Yakut I., Serkant U., Ciftci A., Arslan E., Koç O. TNF- α Blockade Efficiently Reduced Severe Intestinal Damage in Necrotizing Enterocolitis. *J Invest Surg* 2016; 29 (4): 209–17. DOI: 10.3109/08941939.2015.1127449
 29. Emami C.N., Chokshi N., Wang J., Hunter C., Guner Y., Goth K., et al. Role of interleukin-10 in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Am J Surg* 2012; 203 (4): 428–35. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.08.016
 30. Konnikova Y., Zaman M.M., Makda M., D'Onofrio D., Freedman S.D., Martin C.R. Late enteral feedings are associated with intestinal inflammation and adverse neonatal outcomes. *PLoS One* 2015; 10 (7): e0132924. DOI: 10.1371/journal.pone.0132924

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 25.12.2023
Принята к печати 06.02.2024



EDN: NFSNIM

Контактная информация:

Курбатова Ольга Владимировна,
канд. мед. наук, старший научный
сотрудник, заведующая лабораторией
экспериментальной иммунологии
и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья
детей» Минздрава России
Адрес: 119991, Москва,
Ломоносовский просп., 2, стр. 1
E-mail: putintseva@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-128-138

Возрастная динамика показателей клеточного иммунитета, активность внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов и функциональная активность нейтрофилов у детей с болезнью Гоше

О.В. Курбатова¹, Г.Б. Мовсисян¹, М.В. Конышин², С.В. Петричук¹, Д.Г. Купцова¹, Т.В. Радыгина¹, Е.Л. Семикина^{1,3}, А.С. Потапов^{1,3}, А.П. Фисенко¹

¹ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

²ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

Болезнь Гоше (БГ) – это лизосомная болезнь накопления с аутосомно-рецессивным типом наследования. При БГ происходят хроническая активация макрофагальной системы, нарушение регуляторных функций макрофагов, сдвиг цитокиновой регуляции в сторону провоспалительных цитокинов и развитие хронического воспаления с вовлечением всех иммунных клеток, что может приводить к изменению состава как основных, так и малых популяций лимфоцитов. Сниженная активность бета-глюкоцереброзидазы нарушает нормальную лизосомальную функцию и аутофагию, что приводит к внутриклеточному накоплению гликофинголипидов, создающему самоподдерживающийся цикл нарушения утилизации глюкоцереброзида с усугублением работы как лизосом, так и митохондрий. Известно, что для нелеченых пациентов с БГ характерен более частый и осложненный инфекционный статус, который предположительно может возникать из-за изменений функциональной активности нейтрофилов, вызванных нарушением процесса фагоцитоза и окислительного взрыва в этой популяции клеток. Цель работы: изучить возрастные особенности содержания основных и малых популяций лимфоцитов в периферической крови, активность внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов и функциональную активность нейтрофилов у детей с БГ. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. В исследование вошли 73 ребенка с БГ, из них в разные возрастные периоды были обследованы 26 детей (у 1 ребенка – 4 пробы, у 3 детей – 3, у 22 пациентов – 2), группа сравнения составила 148 здоровых детей, сопоставимых по возрасту. В соответствии с референсными интервалами для иммунологических показателей дети были разделены на 5 возрастных групп. Определение субпопуляционного состава лимфоцитов, исследование активности сукцинатдегидрогеназы в основных и малых популяциях лимфоцитов (иммуноцитохимический метод) и оценку функциональной активности нейтрофилов проводили методом проточной цитометрии. Показатели субпопуляций лимфоцитов были проанализированы в процентах отклонения от возрастной нормы. Активность внутриклеточных дегидрогеназ (сукцинатдегидрогеназа, НАДН-дегидрогеназа, лактатдегидрогеназа) определяли цитоморфоденситометрическим методом с помощью анализа изображений. Статистические расчеты проводили с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft, США). Для детей с БГ характерно снижение NK-клеток, увеличение Th17-лимфоцитов и активированных Т-хелперов с возрастом. Анализ активности внутриклеточных дегидрогеназ выявил снижение процессов окислительного фосфорилирования и гликолиза в лимфоцитах периферической крови у детей с БГ. Функциональная активность нейтрофилов у большинства пациентов детского возраста с БГ соответствовала референсным значениям.

Ключевые слова: дети, болезнь Гоше, проточная цитометрия, T_{reg} , Th_{act} , Th17, NK-клетки, нейтрофилы, иммунометаболизм, митохондрия, внутриклеточные дегидрогеназы

Курбатова О.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 128–38. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-128-138

Age-related changes in the parameters of cellular immunity, the activity of intracellular lymphocyte dehydrogenases and functional activity of neutrophils in children with Gaucher disease

O.V. Kurbatova¹, G.B. Movsisyan¹, M.V. Konyashin², S.V. Petrichuk¹, D.G. Kuptsova¹, T.V. Radygina¹, E.L. Semikina^{1,3}, A.S. Potapov^{1,3}, A.P. Fisenko¹

¹National Medical Research Center for Children's Health of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²The N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

³The I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (the Sechenov University), Moscow

Gaucher disease (GD) is an autosomal recessively inherited disease that belongs to the group of lysosomal storage diseases. In GD, there is chronic activation of the macrophage system, disruption of the regulatory functions of macrophages, a shift in cytokine regulation towards pro-inflammatory cytokines and the development of chronic inflammation involving all immune cells, which can lead to changes in the composition of both major and minor populations of lymphocytes. Reduced beta-glucocerebrosidase activity impairs normal lysosomal function and autophagy, leading to the intracellular accumulation of glycosphingolipids, creating a self-sustaining cycle of impaired glucocerebroside utilization with the aggravation of both lysosomal and mitochondrial functions. It is known that untreated patients with GD are susceptible to more frequent and complicated infectious diseases, which presumably may arise due to changes in the functional activity of neutrophils caused by the disruption of the process of phagocytosis and oxidative burst in this cell population. The aim: to study the age-related features of the composition of the major and minor populations of peripheral blood lymphocytes, the activity of intracellular dehydrogenases of lymphocytes and the functional activity of neutrophils in children with GD. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the National Medical Research Center for Children's Health of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. The study included 73 children with GD, of which 26 children were examined at different age periods (1 child – 4 tests, 3 children – 3 tests, 22 children – 2 tests), the comparison group consisted of 148 healthy children comparable in age. The determination of the subpopulation composition of lymphocytes, the study of succinate dehydrogenase activity in the major and minor populations of lymphocytes (by immunocytochemical method) and the assessment of the functional activity of neutrophils were carried out using flow cytometry. The parameters of lymphocyte subpopulations were analyzed as percentage deviations from the age norm. The activity of intracellular dehydrogenases (succinate dehydrogenase, NADH dehydrogenase, lactate dehydrogenase) was determined by a cytomorphodensitometric method using image analysis. The statistical calculations were performed using the Statistica 10.0 program (StatSoft, USA). A decrease in NK cells and an increase in Th17 cells and activated T helper cells are usually observed in children with GD with age. The analysis of the activity of intracellular dehydrogenases revealed a decrease in the processes of oxidative phosphorylation and glycolysis in peripheral blood lymphocytes in children with GD. The functional activity of neutrophils in the majority of children with GD corresponded to the reference values.

Key words: children, Gaucher disease, flow cytometry, T_{reg} , Th_{act} , Th17, NK cells, neutrophils, immunometabolism, mitochondrion, intracellular dehydrogenases

Kurbatova O.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 128–38.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-128-138

Блезнь Гоше (БГ) – это заболевание с ауто-сомно-рецессивным типом наследования, которое относится к нарушениям метаболизма, вызванным мутациями в гене глюкоцереброзидазы (*GBA1*). Бета-глюкоцереброзидаза представляет собой фермент, расщепляющий бета-глюкозидную связь глюкоцереброзидных липидов [1, 2]. Врожденные нарушения метаболизма в первую очередь возникают из-за отсутствия/недостаточного уровня специфических ферментов, необходимых для преобразования жиров или углеводов в энергию или для расщепления аминокислот или других метаболитов, что позволяет им накапливаться и запускать патологические процессы, если не проводить ферментную заместительную терапию (ФЗТ). БГ представляет собой орфанное заболевание, обусловленное накоплением глюкоцереброзидных липидов [3, 4]. Частота БГ составляет 1:40 000–1:70 000 [5].

На сегодняшний день описано более 500 различных мутаций гена *GBA*, из которых наиболее часто встречаются p.N370S и p.L444P [5, 6]. Врожденные нарушения обмена веществ особенно актуальны в педиатрии, поскольку их проявления очень часто приходится на неонатальный период и период грудного возраста. Исторически выделяют 3 клинических типа БГ: 1-й тип – ненейропатический, 2-й тип – острый нейропатический и 3-й тип – хронический нейропатический [1, 6].

Клинические признаки БГ разнообразны, наиболее частыми из них являются спленомегалия, гепатомегалия, цитопения и поражение костей [7].

Глюкоцереброзидаза – гликопротеин, ассоциированный с лизосомной мембраной, состоит из 497 аминокислотных остатков. Фермент присутствует в лизосомах всех тканей, но с разной экспрессией. Наиболее высокий уровень активности фермента наблюдается в тканях эктодермального происхождения, самый низкий – в тканях мезодермального происхождения [8].

В норме при распаде клеток большинство их компонентов реутилизируется. Распад клеточных мембран, являющихся основным источником глюкозилцерамида, происходит в лизосомах макрофагов. Накопление непереработанного субстрата в лизосомах макрофагов приводит к образованию характерных клеток Гоше [6, 9, 10]. Эти клетки имеют гораздо большую продолжительность жизни и в несколько раз крупнее нормальных клеток. Накопление клеток Гоше преимущественно в селезенке и печени приводит к увеличению этих органов. Клетки Гоше метаболически активны, что проявляется стимуляцией высвобождения провоспалительных цитокинов и приводит к вторичным повреждениям тканей и органов [11].

При БГ происходят хроническая активация макрофагальной системы, нарушение регуляторных функций макрофагов, сдвиг цитокиновой регуляции

Correspondence:

Olga V. Kurbatova, Cand. Med. Sci., a senior researcher, Head of the Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 2, building 1, Lomonosovskiy Avenue, Moscow 119991, Russia
E-mail: putintseva@mail.ru

в сторону провоспалительных цитокинов и развитие хронического воспаления с вовлечением всех иммунных клеток, что может приводить к изменению состава как основных, так и малых популяций лимфоцитов [12]. Так, на выборке из 20 пациентов с БГ показано увеличение доли цитотоксических Т-клеток и снижение NK-клеток по сравнению со здоровыми людьми, данный факт авторы связывают с участием данных популяций в патогенезе и прогрессировании БГ [13]. Помимо этого, показано, что, несмотря на ФЗТ, Т-хелперы и В-регуляторные клетки у пациентов с БГ значительно снижены по сравнению с контрольной группой [14]. Показано также значительное снижение доли регуляторных Т-лимфоцитов и их функциональной активности у детей с БГ [12].

Нужно отметить, что внутриклеточная роль бета-глюкоцереброзида не до конца изучена. Современные исследования показывают, что данный фермент взаимодействует с многими белками митохондрий: с цитозольным шапероном, участвующим в сворачивании белков перед импортом в митохондрии (HSC70), белками внешней мембраны митохондрий (TOM70), внутренней мембраны (TIM23 и ATP5B) и матрикса митохондрий (HSP60 и LONP1) [15, 16].

Аномальная активность бета-глюкоцереброзидазы, влияющая на функции лизосом, приводит к внутриклеточному накоплению гликолипидов, нарушая нормальную лизосомальную функцию и аутофагию, что вызывает накопление альфа-синуклеина. Кроме того, накопление альфа-синуклеина нарушает активность глюкоцереброзидазы, создавая самоподдерживающийся цикл лизосомальной дисфункции и накопления альфа-синуклеина, который может задерживать митохондриальные белки в цитозоле, усугубляя как митохондриальную, так и лизосомальную дисфункцию [15].

Метаболическую активность клеток крови можно охарактеризовать рядом ферментов, таких как сукцинатдегидрогеназа (СДГ), НАДН-дегидрогеназа (НАДН-ДГ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ). Все вышеперечисленные ферменты строго связаны друг с другом структурно и функционально. Нарушения в работе одного звена неизбежно ведут к изменению активности работы другого [17].

Для оценки функционального состояния митохондриального аппарата лимфоцитов периферической крови возможно определение активности ферментов дыхательной цепи: СДГ и НАДН-ДГ, а интенсивность процессов гликолиза можно оценивать по активности ЛДГ – фермента, катализирующего обратимое восстановление пировиноградной кислоты до молочной в процессе анаэробного гликолиза [18].

Кроме того, известно, что для нелеченых пациентов с БГ характерны частые инфекционные состояния, которые предположительно могут возникать

из-за нарушений функциональной активности нейтрофилов, вызванных нарушением процесса фагоцитоза и окислительного взрыва в этой популяции клеток [19, 20].

Цель настоящей работы – изучить возрастные особенности содержания основных и малых популяций лимфоцитов в периферической крови, активность внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов и функциональную активность нейтрофилов у детей с БГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Были обследованы 73 ребенка с БГ в возрасте от 1 года до 18 лет (медиана (Me) 10,7 (6,2; 14,6) года), которые находились на лечении в гастроэнтерологическом отделении ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с 2016 по 2023 г. Из 73 детей с БГ в разные возрастные периоды были обследованы 26 (у 1 ребенка – 4 пробы, у 3 детей – 3, у 22 пациентов – 2). До 70% пациентов на момент исследования с 2016 по 2018 г. получали препарат Церезим (Джензайм, Ирландия) с переходом в 2019 г. на отечественный биоаналог имиглюцеразы в виде препарата Глуразим (Генериум, Россия) в дозе 30–60 ЕД/кг 1 раз в 2 нед. Переход был осуществлен на основании результатов доклинических и клинических исследований, продемонстрировавших сопоставимость препаратов Глуразим и Церезим по показателям качества (физико-химическим и биофармацевтическим свойствам), безопасности, эффективности и подтвердивших биоэквивалентность, а также терапевтическую эквивалентность препарата Глуразим референтному препарату [21–23].

Группу сравнения составили 148 здоровых детей, сопоставимых по возрасту. В соответствии с референсными интервалами для иммунологических показателей дети были разделены на 5 возрастных групп: 1-я группа – от 1 до 3 лет ($n = 12$), 2-я группа – от 4 до 5 лет ($n = 30$), 3-я группа – от 6 до 9 лет ($n = 33$), 4-я группа – от 10 до 11 лет ($n = 26$), 5-я группа – старше 12 лет ($n = 73$).

Определение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови проводили на проточном цитометре CYTOMICS FC500 (Beckman Coulter, США). В лимфоидном регионе CD45⁺ оценивали популяции Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻), В-лимфоцитов (CD3⁻CD19⁺), NK-клеток (CD3⁻CD16⁺CD56⁺), NKT-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺), Th17-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺CD161⁺), регуляторных Т-клеток (CD4⁺CD25⁺CD127^{low}) и активированных Т-хелперов (CD4⁺CD25⁺CD127^{high}).

Показатели субпопуляций лимфоцитов были проанализированы в процентах отклонения от возрастной нормы для выявления наиболее типичных изменений иммунологических показателей у детей с БГ. Формула расчета отклонений:

$$X_n = (X_{\min} - X) / 0,01 \times (X_{\max} - X_{\min}),$$

где X_n – значение индивидуального показателя, нормированное на возрастную норму; X – значение изучаемого показателя; X_{\max} – верхняя граница возрастной нормы; X_{\min} – нижняя граница возрастной нормы. Диапазон возрастной нормы принимали за 100%.

Активность дегидрогеназ определяли цитоморфоденситометрическим методом с помощью анализа изображений (ВидеоТест, программа «Морфология 5.2»). Активность ферментов оценивали по общему продукту цитохимической реакции на основании оптической плотности и площади гранул.

Активность СДГ в основных и малых популяциях лимфоцитов определяли иммуноцитохимическим методом на проточном цитометре CYTOMICS FC500 [24]. Метод основан на увеличении гранулярности клеток (показатель бокового светорассеяния) после проведения цитохимической реакции на выявление активности фермента в пермеабелизованных и окрашенных моноклональными антителами клетках.

Оценку функциональной активности нейтрофилов проводили у 18 детей с БГ с помощью набора FagoFlowEx[®] Kit на проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences, США).

Статистические расчеты проводили с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft, США). Описательная статистика представлена в виде $Me (Q_{0,25}; Q_{0,75})$. Достоверность результатов оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни, за достоверные принимали отличия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У детей с БГ выявлено снижение абсолютного количества лимфоцитов с возрастом аналогично возрастной динамике снижения в группе условно здоровых детей (таблица 1), достоверной разницы между пациентами с БГ и группой сравнения не выявлено ни в одной возрастной группе.

Оценка основных популяций лимфоцитов показала, что в 1-й возрастной группе достоверно выше содержание цитотоксических Т-лимфоцитов относительно группы сравнения ($p = 0,013$) (таблица 1).

Во 2-й возрастной группе достоверно снижено содержание Т-хелперов ($p = 0,014$) и повышено содержание цитотоксических Т-лимфоцитов ($p = 0,014$) относительно группы сравнения, что привело к снижению иммунорегуляторного индекса ($p = 0,002$; таблица 1). Выявлено также снижение

содержания относительного и абсолютного количества NKT-клеток относительно группы сравнения: $p = 0,017$ и $p = 0,023$ соответственно (таблица 1).

В 3-й возрастной группе достоверных отличий в иммунном статусе пациентов с БГ от группы сравнения выявлено не было.

В 4-й возрастной группе выявлены повышение содержания относительного и абсолютного количества Т-хелперов ($p = 0,01$ и $p = 0,01$ соответственно), снижение содержания относительного и абсолютного количества NK-клеток ($p = 0,003$ и $p = 0,033$ соответственно), а также повышение иммунорегуляторного индекса ($p = 0,04$; таблица 1).

Для 5-й возрастной группы отмечено наибольшее количество отклонений показателей клеточного иммунитета у пациентов с БГ относительно группы сравнения: снижение доли Т-хелперов ($p = 0,043$) и NK-клеток ($p = 0,001$), увеличение доли цитотоксических Т-лимфоцитов ($p = 0,005$) и В-клеток ($p = 0,03$), снижение абсолютного количества Т-хелперов ($p = 0,032$) и NK-клеток ($p = 0,031$), а также иммунорегуляторного индекса ($p = 0,001$; таблица 1).

Анализ содержания малых популяций CD4⁺ Т-клеток у детей с БГ не выявил отличий от группы сравнения в 1-й возрастной группе (таблица 2).

Во 2-й возрастной группе достоверно снижены относительное содержание Т-регуляторных клеток (% от всех лимфоцитов, $p = 0,001$) и абсолютные значения ($p = 0,019$; таблица 2). Содержание Т-хелперов 17-го типа (% CD4) значимо выше, чем в группе сравнения ($p = 0,005$; таблица 2).

В 3-й возрастной группе выявлено значимое повышение содержания Th17-лимфоцитов ($p = 0,001$; таблица 2).

В 4-й возрастной группе также выявлено повышение содержания относительного и абсолютного количества Th17-лимфоцитов ($p = 0,049$) и снижение доли Т-регуляторных клеток (% от всех лимфоцитов; $p = 0,015$; таблица 2).

Для 5-й возрастной группы выявлено значимое повышение доли Th17-лимфоцитов ($p = 0,029$; таблица 2).

Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов в процентах отклонения от возрастной нормы выявил наиболее типичные изменения иммунологических показателей у детей с БГ: относительное количество Т-лимфоцитов соответствовало референсным интервалам у большинства детей, было повышено в 26,7% случаев, снижение отмечено только у 11,9% пациентов (рисунок 1). Содержание Т-хелперов было повышено у 31,4%, а снижено у 24,5% детей; у 30,4% пациентов выявлено снижение доли Т-цитотоксических лимфоцитов, а повышение – у 21,6% (рисунок 1). Содержание NK-клеток только у 2% детей было повы-

Таблица 1

Показатели основных популяций лимфоцитов у детей с БГ в зависимости от возраста (Me (Q_{0,25}; Q_{0,75}))

Table 1

The parameters of the major lymphocyte populations in children with Gaucher disease (GD) depending on age (Me (Q_{0,25}; Q_{0,75}))

Показатель Parameter	Группа Study group	Возрастная группа Age group				
		1	2	3	4	5
Абсолютное количество всех лимфоцитов Absolute lymphocyte count	Пациенты с БГ GD patients	3830,0 (2920,6; 4237,8)	3429,7 (2560,4; 4048,8)	2395,3 (2177,3; 2790,2)	2131,9 (1818,3; 2500,0)	1972,5 (1598,8; 2340,8)
	Группа сравнения Comparison group	3839,0 (2321,7; 6209,5)	3401,2 (2947,2; 4595,0)	2303,9 (2157,4; 2616,6)	1817,5 (1707,6; 2110,1)	2037,7 (1780,2; 2432,0)
Т-лимфоциты, % от всех лимфоцитов T cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	65,6 (62,1; 69,2)	69,4 (66,6; 73,6)	72,2 (66,4; 77,9)	75,9 (70,7; 80,9)	74,6 (70,8; 79,3)
	Группа сравнения Comparison group	54,5 (54,3; 66,2)	69,9 (63,9; 73,2)	73,1 (69,7; 78,5)	70,1 (66,6; 76,9)	73,9 (69,0; 80,2)
Т-лимфоциты, абс. T cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	2497,0 (1844,4; 2913,4)	2342,5 (1962,1; 2808,9)	1698,6 (1485,6; 2155,3)	1683,3 (1358,0; 1895,1)	1540,0 (1227,2; 1808,6)
	Группа сравнения Comparison group	2093,3 (1537,3; 3371,9)	2419,8 (1773,1; 3087,5)	1703,2 (1598,9; 1882,7)	1236,6 (1177,6; 1768,6)	1542,9 (1286,8; 1832,0)
Т-хелперы, % от всех лимфоцитов T helper cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	36,4 (32,6; 40,0)	34,4** (30,7; 36,1)	38,4 (33,2; 41,9)	43,7* (38,5; 45,6)	40,1** (36,1; 43,9)
	Группа сравнения Comparison group	36,2 (32,6; 37,4)	40,3 (35,2; 43,8)	38,5 (33,7; 44,5)	33,2 (31,4; 38,3)	42,8 (37,3; 47,1)
Т-хелперы, абс. T helper cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	1372,8 (854,9; 1650,1)	1091,3 (816,3; 1465,4)	904,6 (776,8; 1044,4)	915,2* (736,5; 1159,0)	808,3** (545,9; 927,0)
	Группа сравнения Comparison group	1253,9 (839,7; 2322,7)	1358,1 (1083,7; 1661,1)	856,4 (805,2; 1041,5)	627,6 (582,5; 799,5)	882,8 (743,2; 1069,1)
Цитотоксические Т-лимфоциты, % от всех лимфоцитов Cytotoxic T cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	27,8** (26,2; 34,3)	27,1** (25,7; 33,2)	31,0 (25,5; 32,8)	27,8 (22,9; 32,8)	32,6** (24,9; 37,9)
	Группа сравнения Comparison group	19,6 (18,4; 25,1)	23,8 (21,0; 27,0)	26,8 (24,7; 33,3)	27,8 (24,9; 30,3)	27,4 (24,0; 32,5)
Цитотоксические Т-лимфоциты, абс. Cytotoxic T cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	1025,5 (918,2; 1660,2)	983,0 (750,5; 1124,5)	731,9 (652,0; 796,1)	579,3 (517,5; 700,7)	666,2 (429,1; 799,2)
	Группа сравнения Comparison group	735,6 (582,0; 1143,6)	835,4 (604,9; 955,2)	613,7 (557,0; 800,0)	498,5 (446,7; 613,5)	593,7 (442,7; 741,4)
CD4/CD8	Пациенты с БГ GD patients	1,2 (1,1; 1,5)	1,3** (0,9; 1,5)	1,2 (1,1; 1,6)	1,7** (1,3; 1,9)	1,2** (1,0; 1,6)
	Группа сравнения Comparison group	1,7 (1,4; 2,0)	1,6 (1,4; 1,9)	1,5 (1,1; 1,8)	1,3 (1,1; 1,4)	1,5 (1,3; 1,8)
В-лимфоциты, % от всех лимфоцитов B cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	23,2 (20,2; 25,9)	20,8 (17,4; 23,4)	17,2 (13,0; 21,6)	17,7 (14,0; 19,3)	15,4** (12,4; 18,3)
	Группа сравнения Comparison group	29,7 (24,8; 30,8)	16,0 (13,7; 21,4)	16,4 (13,5; 17,8)	13,7 (11,6; 15,2)	12,7 (10,1; 15,7)
В-лимфоциты, абс. B cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	939,0 (695,4; 950,0)	611,1 (484,8; 817,0)	415,5 (352,9; 488,0)	372,0 (234,9; 477,1)	252,6 (192,9; 377,4)
	Группа сравнения Comparison group	1181,5 (575,1; 1844,7)	527,5 (448,2; 823,5)	377,7 (321,0; 477,4)	283,5 (221,1; 321,2)	276,6 (198,5; 360,3)
NK-клетки, % от всех лимфоцитов NK cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	9,4 (6,4; 12,0)	9,9 (5,8; 13,4)	8,5 (6,2; 12,4)	7,3** (5,2; 10,5)	9,1 (6,8; 12,1)
	Группа сравнения Comparison group	14,7 (9,0; 16,0)	13,0 (8,7; 16,3)	9,5 (7,1; 12,1)	16,1 (10,6; 19,8)	11,4 (7,0; 16,0)
NK-клетки, абс. NK cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	359,2 (217,3; 668,1)	310,8 (178,8; 431,1)	227,5 (152,4; 361,1)	141,4** (98,0; 207,2)	161,2** (118,6; 261,0)
	Группа сравнения Comparison group	564,1 (209,3; 992,8)	404,1 (254,7; 583,7)	213,7 (163,0; 280,0)	283,4 (196,4; 392,0)	231,0 (134,1; 351,2)
NKT-клетки, % от всех лимфоцитов NKT cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	1,2 (0,4; 4,1)	1,1** (0,5; 1,4)	1,9 (0,8; 4,3)	1,9 (1,2; 2,6)	1,5* (0,9; 2,6)
	Группа сравнения Comparison group	0,397 (0,298; 0,495)	1,6 (1,2; 3,4)	1,8 (0,8; 3,1)	1,9 (1,4; 4,0)	3,0 (1,7; 5,6)
NKT-клетки, абс. NKT cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	71,6 (11,8; 171,8)	33,1** (18,7; 50,2)	49,1 (18,3; 119,1)	38,1 (20,1; 98,5)	28,2* (12,9; 58,8)
	Группа сравнения Comparison group	11,5 (11,4; 11,5)	52,0 (34,9; 151,4)	50,1 (19,7; 69,8)	35,7 (22,5; 77,3)	62,6 (35,3; 119,9)

Примечание. Здесь, в таблице 2 и на рисунке 5: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.
Note. Here, in table 2 and in figure 5: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

шено, для большинства (53,9%) пациентов было характерно снижение данного показателя (рисунок 1).

Анализ отклонения содержания малых популяций CD4⁺ Т-клеток у детей с БГ выявил, что у большинства пациентов (43,1%) регуляторные Т-клетки соответство-

вали референсному интервалу, а у 40,2% детей были снижены, повышение отмечено только в 16,7% случаев (рисунок 2).

Содержание Th17-лимфоцитов и активированных Т-хелперов было повышено у 56,9% и 33,3% детей соот-

Таблица 2

Показатели малых популяций лимфоцитов у детей с БГ в зависимости от возраста (Me ($Q_{0,25}$; $Q_{0,75}$))

Table 2

The parameters of the minor lymphocyte populations in children with GD depending on age (Me ($Q_{0,25}$; $Q_{0,75}$))

Показатель Parameter	Группа Study group	Возрастная группа Age group				
		1	2	3	4	5
Активированные Т-лимфоциты, % от всех лимфоцитов Activated T cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	5,8 (4,1; 7,2)	5,9 (3,2; 8,7)	5,7 (3,3; 9,2)	6,6 (2,5; 8,0)	6,9 (4,4; 8,5)
	Группа сравнения Comparison group	3,9 (2,5; 5,2)	4,7 (2,9; 6,2)	5,8 (4,1; 8,2)	8,0 (4,4; 10,7)	6,4 (4,1; 8,6)
Активированные Т-лимфоциты, % от всех Т-лимфоцитов Activated T cells, % of all T cells	Пациенты с БГ GD patients	8,4 (6,1; 10,8)	9,1 (4,2; 11,5)	7,6 (4,7; 11,2)	7,2 (3,3; 10,6)	7,6 (5,9; 11,2)
	Группа сравнения Comparison group	6,3 (4,6; 7,9)	5,6 (3,9; 7,3)	7,9 (4,1; 10,4)	11,0 (6,7; 13,4)	8,3 (5,3; 10,6)
Активированные Т-лимфоциты, абс. Activated T cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	208,2 (142,4; 525,2)	186,8 (117,2; 271,4)	161,3 (90,5; 221,2)	127,3 (55,6; 201,0)	123,0 (74,5; 189,0)
	Группа сравнения Comparison group	108,9 (96,3; 121,4)	156,0 (106,0; 252,0)	153,4 (82,1; 212,0)	145,7 (71,1; 192,5)	124,0 (83,5; 175,7)
Регуляторные Т-лимфоциты, % от всех лимфоцитов Regulatory T cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	2,7 (1,6; 3,3)	2,5** (2,1; 3,2)	3,4 (2,7; 3,6)	2,9** (2,7; 3,2)	3,2 (2,5; 3,7)
	Группа сравнения Comparison group	2,7 (2,4; 3,4)	3,4 (2,9; 4,4)	3,5 (3,2; 4,4)	3,4 (3,0; 3,5)	3,3 (2,8; 4,0)
Регуляторные Т-лимфоциты, % от всех Т-хелперов Regulatory T cells, % of all T helper cells	Пациенты с БГ GD patients	7,1 (6,6; 9,7)	7,5 (6,3; 9,2)	8,6 (7,6; 11,2)	6,9 (6,2; 7,9)	7,5 (6,8; 8,5)
	Группа сравнения Comparison group	7,1 (6,5; 10,30)	8,9 (7,3; 11,2)	9,7 (8,3; 11,1)	9,7 (8,0; 11,2)	7,4 (6,9; 9,1)
Регуляторные Т-лимфоциты, абс. Regulatory T cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	81,0 (67,4; 140,0)	78,7** (51,3; 121,3)	79,3 (62,7; 98,0)	69,1 (54,4; 77,1)	59,8 (47,0; 74,9)
	Группа сравнения Comparison group	129,2 (54,6; 164,9)	129,1 (110,2; 158,4)	82,0 (64,6; 114,0)	60,3 (52,7; 67,8)	67,7 (55,0; 81,6)
Активированные Т-хелперы, % от всех лимфоцитов Activated T helper cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	1,6 (1,4; 2,4)	2,5 (1,7; 3,0)	3,9 (2,9; 4,5)	4,5 (3,3; 5,7)	6,6 (5,2; 8,1)
	Группа сравнения Comparison group	1,4 (1,1; 2,7)	2,9 (1,6; 3,2)	3,6 (3,3; 5,3)	5,5 (3,9; 6,2)	6,7 (4,581; 8,931)
Активированные Т-хелперы, % от всех Т-хелперов Activated T helper cells, % of all T helper cells	Пациенты с БГ GD patients	5,1 (4,2; 5,9)	7,6 (5,3; 8,8)	10,0 (8,6; 12,2)	9,4** (7,3; 14,2)	16,3 (14,2; 19,1)
	Группа сравнения Comparison group	3,8 (3,3; 7,3)	7,0 (4,7; 9,9)	10,2 (8,1; 13,2)	15,2 (11,9; 17,5)	15,4 (11,3; 20,2)
Активированные Т-хелперы, абс. Activated T helper cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	76,4 (41,0; 115,5)	74,2 (50,2; 111,1)	91,4 (78,1; 113,2)	101,3 (66,4; 119,1)	129,5 (82,3; 168,3)
	Группа сравнения Comparison group	41,4 (31,9; 169,6)	76,0 (70,3; 117,7)	91,4 (77,5; 137,3)	109,2 (77,2; 123,3)	129,0 (90,5; 204,9)
Т-хелперы 17-го типа, % от всех лимфоцитов T helper 17 cells, % of all lymphocytes	Пациенты с БГ GD patients	3,2 (2,4; 4,5)	5,1 (4,3; 6,0)	7,6** (6,4; 10,0)	9,6** (8,4; 10,6)	10,3** (8,2; 12,2)
	Группа сравнения Comparison group	3,3 (3,0; 3,6)	4,9 (3,6; 5,2)	5,5 (4,0; 6,3)	6,2 (5,7; 8,0)	8,4 (6,2; 11,2)
Т-хелперы 17-го типа, % от всех Т-хелперов T helper 17 cells, % of all T helper cells	Пациенты с БГ GD patients	9,1 (6,1; 11,5)	16,3** (12,0; 17,8)	23,6* (18,1; 25,2)	24,6* (20,1; 28,6)	26,3* (21,7; 31,5)
	Группа сравнения Comparison group	8,8 (8,1; 11,0)	11,8 (10,0; 13,7)	12,3 (11,0; 16,0)	18,8 (16,1; 23,2)	19,5 (16,2; 25,2)
Т-хелперы 17-го типа, абс. T helper 17 cells, absolute count	Пациенты с БГ GD patients	141,4 (59,1; 202,6)	164,5 (129,5; 197,8)	206,1** (177,0; 229,3)	200,3* (176,1; 245,5)	175,4 (140,6; 234,5)
	Группа сравнения Comparison group	137,9 (68,0; 204,4)	161,8 (145,5; 170,3)	137,3 (95,0; 145,7)	127,2 (112,7; 149,5)	171,6 (143,2; 223,0)

ветственно, а снижение данных показателей было выявлено только у 16,7% и 18,6% пациентов соответственно (рисунки 2).

Анализ возрастной динамики отклонений показателей клеточного иммунитета от референсных значений выявил достоверное увеличение Т-хелперов с возрастом (рисунки 3А). Цитотоксические Т-лимфоциты значимо снижались к возрасту 10–11 лет, не выходя за пределы референсного интервала, а потом повышались к возрасту старше 12 лет (рисунки 3Б). Содержание

В-клеток в основном соответствовало возрастным референсным значениям (рисунки 3В). Содержание НК-клеток достоверно снижалось с возрастом и с 6–9 лет находилось ниже референсного диапазона (рисунки 3Г).

Анализ возрастной динамики отклонений показателей клеточного иммунитета от референсных значений малых популяций CD4⁺ Т-клеток выявил значимое увеличение Th17-лимфоцитов ($p = 0,012$; рисунки 4А) и активированных Т-хелперов ($p = 0,019$;

Рисунок 1
Распределение пациентов с БГ в зависимости от индивидуальных отклонений основных популяций лимфоцитов

Figure 1
The distribution of GD patients according to individual deviations in the major lymphocyte populations

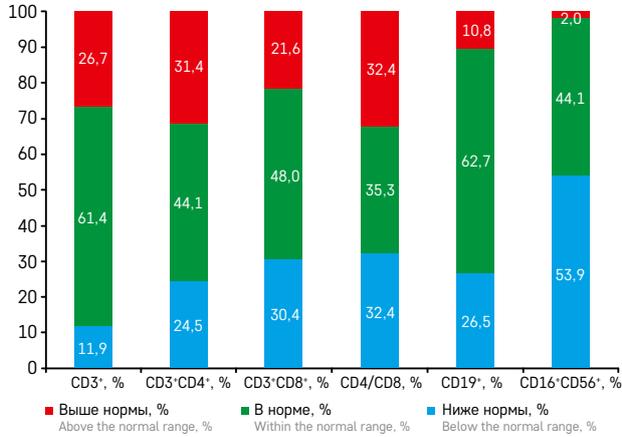


Рисунок 2
Распределение пациентов с БГ в зависимости от индивидуальных отклонений малых популяций лимфоцитов

Figure 2
The distribution of GD patients according to individual deviations in the minor lymphocyte populations

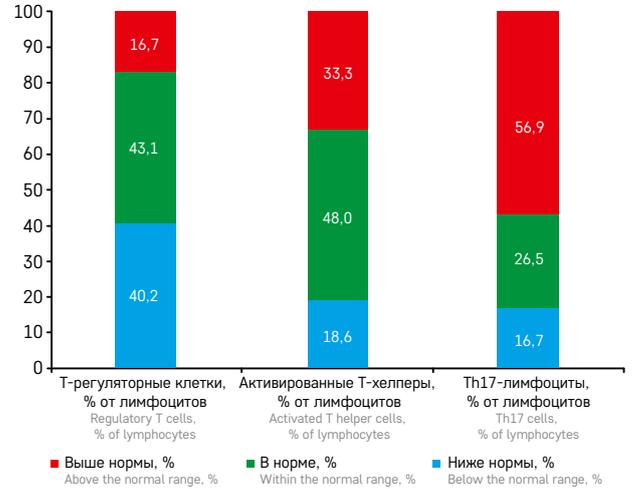


Рисунок 3
Возрастная динамика отклонений от референсных значений основных популяций лимфоцитов у детей с БГ (Me (Q_{0,25}; Q_{0,75})). Объяснение в тексте

Figure 3
Age-related changes in the deviations from reference values in the major lymphocyte populations in children with (Me (Q_{0,25}; Q_{0,75})). An explanation is given in the text

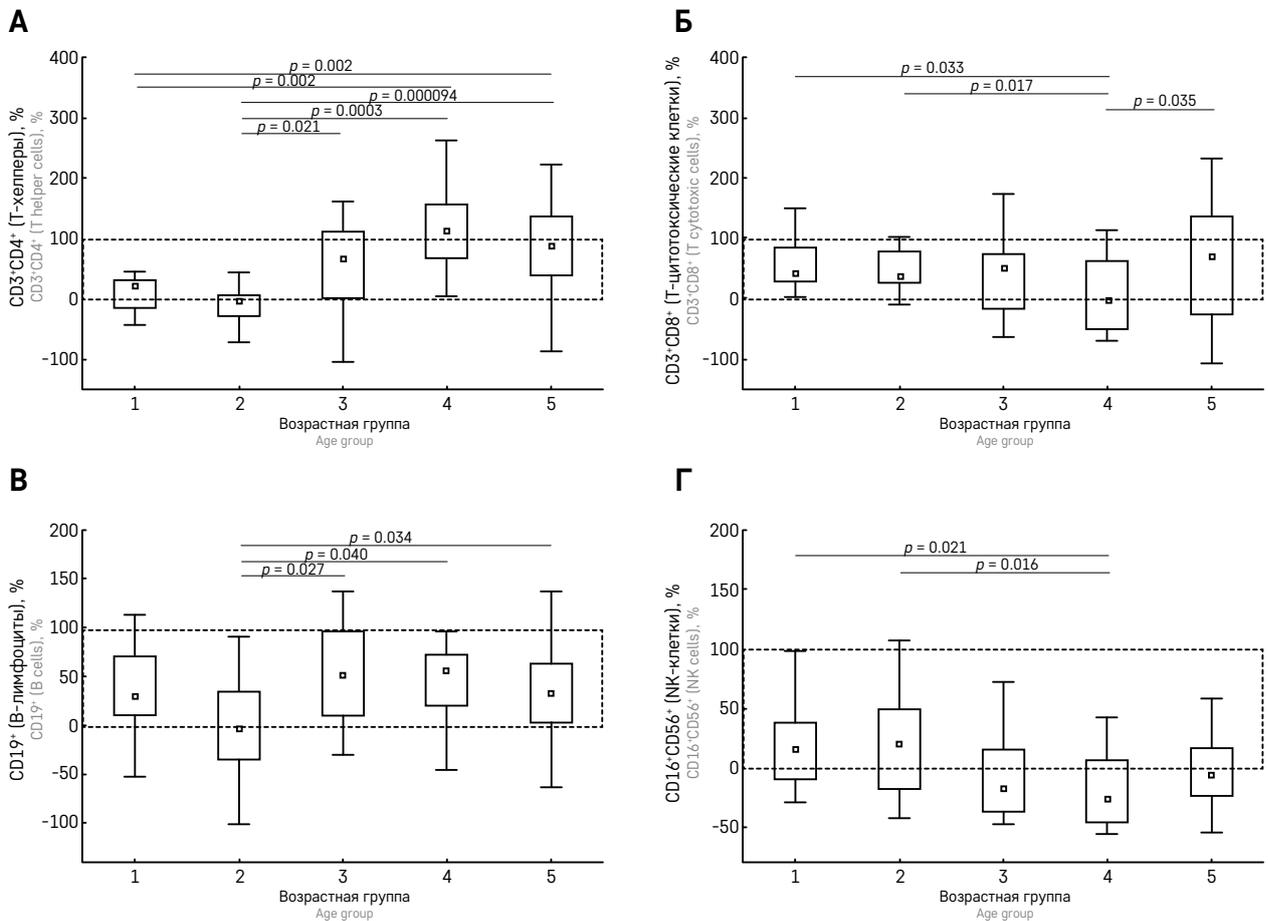


рисунок 4Б) с возрастом. Содержание Т-регуляторных клеток в основном находилось в пределах референсных значений и не зависело от возраста (рисунок 4В).

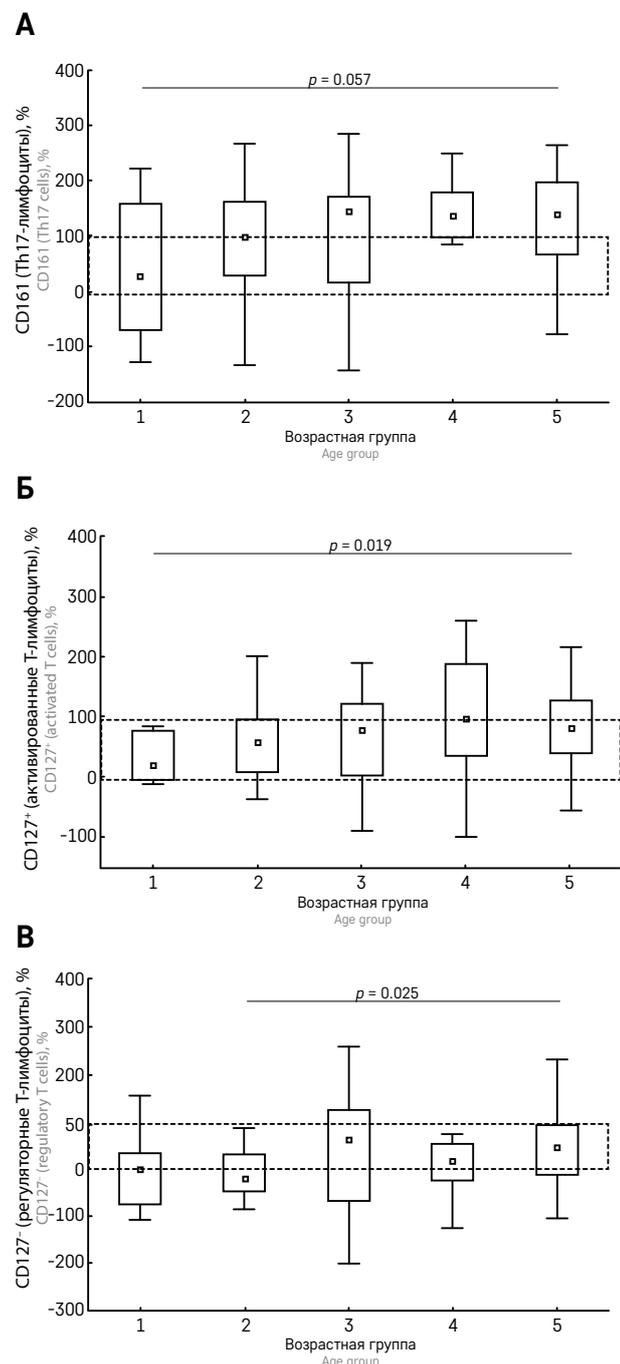
Исследование внутриклеточных дегидрогеназ в общей популяции лимфоцитов у детей с БГ выявило снижение активности ферментов, при этом степень снижения была разной и составила: СДГ в среднем на 34%, НАДН-ДГ – на 30%, ЛДГ – на 32% от показателей условно здоровых детей (рисунок 5).

Рисунок 4

Возрастная динамика отклонений от референсных значений малых популяций лимфоцитов у детей с БГ (Me ($Q_{0,25}$; $Q_{0,75}$)). Объяснение в тексте

Figure 4

Age-related changes in the deviations from reference values in the minor lymphocyte populations in children with GD (Me ($Q_{0,25}$; $Q_{0,75}$)). An explanation is given in the text



Детальный анализ активности СДГ в субпопуляциях лимфоцитов выявил, что у детей с БГ относительно группы сравнения снижение было значимым во всех популяциях, при этом максимальное снижение отмечено в активированных Т-хелперах, Th17-лимфоцитах и Т-цитотоксических лимфоцитах, в В-клетках выявлено минимальное снижение активности (рисунок 6).

Оценка функции нейтрофилов у детей с БГ выявила, что у 3 (16,7%) из 18 пациентов индекс стимуляции гранулоцитов был ниже пороговых значений ($N < 30$), а у остальных пациентов индекс соответствовал референсному интервалу ($N > 30$). Фагоцитирующая способность измерялась в диапазоне от 93,5 до 99,8% (Me 98,6% (98,2%; 99,3%)), что также соответствовало референсному интервалу.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

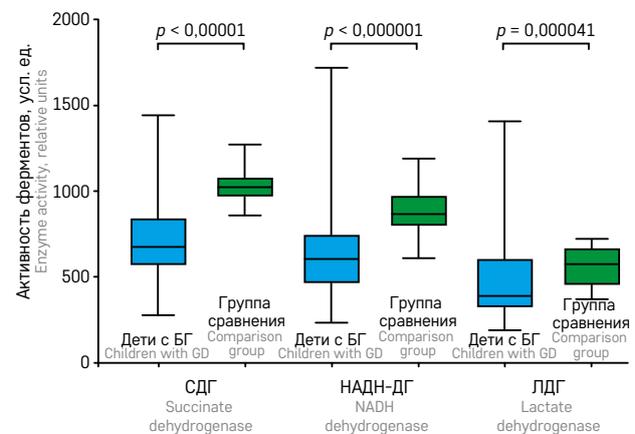
Проведенные нами исследования показали, что возрастная динамика показателей клеточного иммунитета у детей с БГ повторяет динамику группы сравнения. Тем не менее выявлен ряд показателей, которые превышают или снижены относительно контрольной группы. У детей с БГ отмечено значимое повышение цитотоксических Т-лимфоцитов в 1-й, 2-й и 5-й возрастных группах. В остальных группах также наблюдалась подобная тенденция, что согласуется с данными А.М. Zahran и подтверждает участие данной популяции в патогенезе БГ [13]. Помимо этого, выявлено снижение доли Т-хелперов во 2-й и

Рисунок 5

Активность внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов у детей с БГ и в группе сравнения

Figure 5

The intracellular dehydrogenase activity of lymphocytes in children with GD and in children from the comparison group

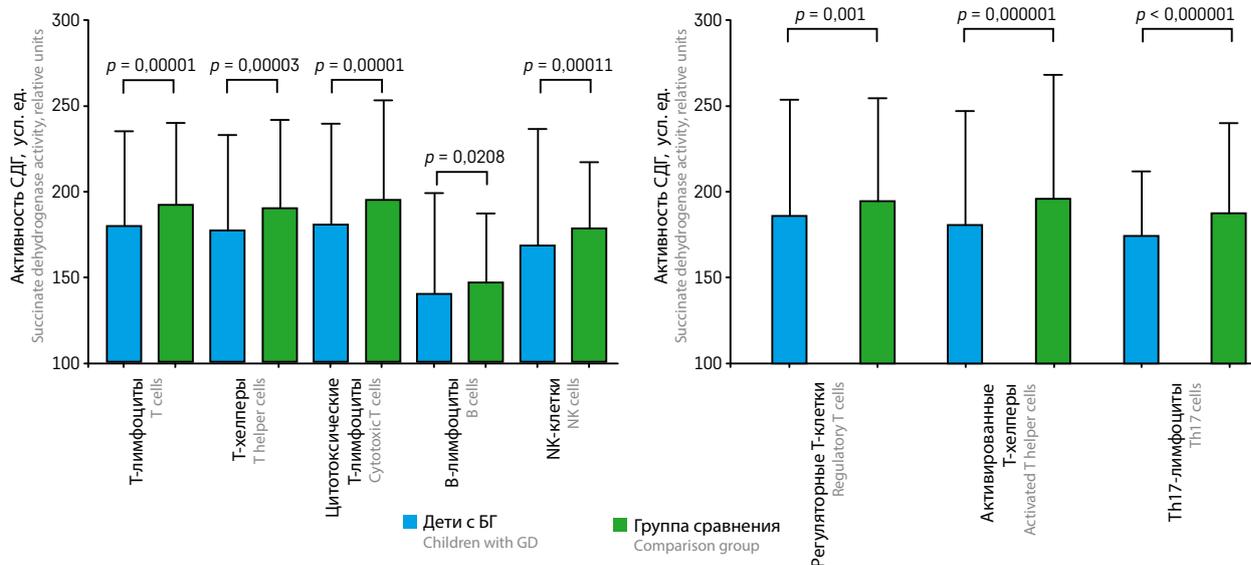


Показатель Parameter	Дети с БГ Children with GD	Группа сравнения Comparison group
СДГ Succinate dehydrogenase	676* (848–560)	1025 (1085–960)
НАДН-ДГ NADH dehydrogenase	606* (752–460)	867,6 (971–791)
ЛДГ Lactate dehydrogenase	389* (605–319)	579,2 (670–447)

Рисунок 6
Активность СДГ в популяциях лимфоцитов у детей с БГ и в группе сравнения

Figure 6

The succinate dehydrogenase activity of lymphocyte populations in children with GD and in children from the comparison group



5-й возрастных группах, что приводило к значимому снижению иммунорегуляторного индекса. В 4-й и 5-й возрастных группах было значимо снижено содержание абсолютного количества NK-клеток относительно группы сравнения. Помимо этого, в нашем исследовании выявлено снижение NKT-клеток во 2-й и 5-й возрастных группах. Снижение NK-клеток в периферической крови может быть обусловлено участием этой популяции клеток в воспалительных процессах непосредственно в печени [25].

Анализ содержания малых популяций CD4⁺ T-клеток у детей с БГ выявил повышенное содержание Th17-лимфоцитов относительно группы сравнения, начиная с возраста 3–5 лет. Данный факт может объяснять усиление воспалительного процесса с присоединением аутоиммунного компонента течения БГ, который может быть связан с необходимостью удаления поврежденных клеток, в том числе клеток печени. В экспериментальных исследованиях на мышинной модели с БГ показано, что избыток глюкозилцерамидов в клетках имеет решающее значение для активации антиген-презентирующей функции клеток и индукции иммунного ответа по типу Th1- и Th17-лимфоцитов, что согласуется с полученными нами данными [26].

В нашем исследовании оценка содержания регуляторных T-лимфоцитов у детей с БГ выявила снижение доли только во 2-й и 4-й возрастных группах, в остальных группах содержание клеток соответствовало референсным значениям. Похожий результат был описан А.М. Zahran о снижении данной популяции при анализе ограниченной выборки у 20 пациентов с БГ [12].

Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов в процентах отклонения от возрастной нормы выявил наиболее типичные изменения иммунологических показателей у детей с БГ: относительное количество T-лимфоцитов, T-хелперов и T-цитотоксических лимфоцитов соответствовало референсным интервалам у большинства детей, при этом содержание NK-клеток для большинства детей было снижено. Анализ отклонения содержания малых популяций лимфоцитов у детей с БГ выявил, что только у 43% пациентов регуляторные T-клетки соответствовали норме, а у 40% детей отмечено снижение этой популяции. Содержание Th17-лимфоцитов было повышено у большинства (56,9%) обследованных нами детей. Активированные T-хелперы в основном находились в пределах референсных значений или были повышены.

Исследование активности дегидрогеназ лимфоцитов у детей с БГ выявило снижение активности всех изученных ферментов относительно показателей условно здоровых детей. Полученный результат согласуется с данными других исследователей, которые продемонстрировали возможность взаимодействия бета-глюкоцереброзида с многими белками митохондрий и снижение их функций [15, 16].

Интересно отметить, что снижение активности СДГ было выявлено во всех популяциях, но при этом максимальное снижение отмечено в активированных T-хелперах, Th17-лимфоцитах и T-цитотоксических лимфоцитах, а минимальное снижение активности – в B-клетках. Возможно, это связано с переключением иммунометаболизма эффекторных клеток в процессе их активации с окислительного фосфорилирования на гликолиз для удовлетворения потребностей синтеза и пролиферации [27].

Оценка функции нейтрофилов у 18 детей с БГ выявила, что индекс стимуляции гранулоцитов и фагоцитирующая способность нейтрофилов в большинстве случаев соответствовали референсному интервалу. Возможно, дисфункция нейтрофилов при БГ присоединяется в более старшем возрасте, когда повышается риск развития сепсиса у данных пациентов [19, 20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для детей с БГ характерно снижение NK-клеток, увеличение Th17-лимфоцитов и активированных T-хелперов с возрастом.

Анализ активности внутриклеточных дегидрогеназ выявил снижение процессов окислительного фосфорилирования и гликолиза в лимфоцитах периферической крови у детей с БГ.

Функциональная активность нейтрофилов у большинства детей с БГ соответствовала референсным значениям.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Kurbatova O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9213-5281>

Movsisyan G.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2881-4703>

Konyashin M.V. ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3206-8090>

Petrichuk S.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0896-6996>

Kuptsova D.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7771-3314>

Radygina T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4704-6885>

Semikina E.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8923-4652>

Potapov A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4905-2373>

Fisenko A.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8586-7946>

Литература

- Stone W.L., Basit H., Mukkamalla S.K.R., Master S.R. Gaucher Disease. In: StatPearls (Internet). Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
- Futerman A.H., Zimran A. (eds.). Gaucher Disease. Taylor & Francis Group, LLC; 2007. 528 p.
- Лукина Е.А., Сысоева Е.П., Мамонов В.Е., Яцык Г.А., Цветаева Н.В., Гундобина О.С. и др. Национальные клинические рекомендации «Диагностика и лечение болезни Гоше». М.; 2014. 21 с. [Lukina E.A., Sysoeva E.P., Mamonov V.E., Yatsyk G.A., Tsvetaeva N.V., Gundobina O.S. et al. National clinical guidelines "Diagnosis and treatment of Gaucher disease". Moscow; 2014, p 21. (In Russ.)].
- Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с болезнью Гоше. М.: Союз педиатров России; 2015. 16 с. [Federal clinical guidelines for the provision of medical care for children with Gaucher disease. Moscow: the Union of Pediatricians of Russia; 2015, p 16. (In Russ.)].
- Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с болезнью Гоше. М.: Союз педиатров России; 2021. 16 с. [Электронный ресурс] URL: https://www.pediatr-russia.ru/information/klin-rek/proekty-klinicheskikh-rekomendatsiy/%D0%91%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%B7%D0%BD%D1%8C%20%D0%93%D0%BE%D1%88%D0%B5_1.06.2021.pdf (дата обращения 07.02.2024). [Federal clinical guidelines for the provision of medical care for children with Gaucher disease. Moscow: the Union of Pediatricians of Russia; 2021, p 16. [Electronic resource] URL: https://www.pediatr-russia.ru/information/klin-rek/proekty-klinicheskikh-rekomendatsiy/%D0%91%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%B7%D0%BD%D1%8C%20%D0%93%D0%BE%D1%88%D0%B5_1.06.2021.pdf (access date 07.02.2024. (In Russ.)].
- Давыдова А.В. Лизосомные болезни накопления: болезнь Гоше. Сибирский медицинский журнал (Иркутск) 2009; 88 (5): 9–14. [Davydova A.V. Lysosomal storage disorders: Gaucher's disease. Siberian medical journal (Irkutsk) 2009; 88 (5): 9–14. (In Russ.)].
- Мовсисян Г.Б., Савостьянов К.В., Пушков А.А., Мазанова Н.Н., Хазыкова Д.В., Фирумянц А.И. и др. Опыт применения велаглуцеразы альфа у детей с болезнью Гоше 1-го типа в России. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2023; 22 (3): 94–102. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-94-102. [Movsisyan G.B., Savost'yanov K.V., Pushkov A.A., Mazanova N.N., Khazykova J.V., Firumyants A.I., et al. Velaglucerase alfa for treatment in children with Gaucher disease type 1: the Russian experience. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2023; 22 (3): 94–102. (In Russ.)].
- Букина Т.М., Басистова А.А., Белогурова М.Б., Гундобина О.С. Болезнь Гоше: патогенез и клинические проявления. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2004; 3 (4): 36–42. [Bukina T.M., Basistova A.A., Belogurova M.B., Gundobina O.S. Gaucher disease: pathogenesis and clinical manifestations. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2004; 3 (4): 36–42. (In Russ.)].
- Белогурова М.Б. Патогенез, клиническая картина, диагностика и лечение болезни Гоше. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2008; 7 (4): 11–17. [Belogurova M.B. Pathogenesis, clinical manifestation, diagnosis, and treatment of Gaucher's disease. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2008; 7 (4): 11–17. (In Russ.)].
- Пономарев Р.В., Лукина Е.А. Болезнь Гоше: достижения и перспективы. Терапевтический архив 2021; 93 (7): 830–6. DOI: 10.26442/00403660.2021.07.200912 [Ponomarev R.V., Lukina E.A. Gaucher disease: achievements and prospects. Therapeutic Archive 2021; 93 (7): 830–6. (In Russ.)].
- Белогурова М.Б., Диникина Ю.В., Кудлай Д.А., Борозинец А.Ю. Болезнь Гоше у детей: что изменилось в XXI веке. Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО) 2019; 6 (4): 19–24. DOI: 10.21682/2311-1267-2019-6-4-19-24. [Belogurova M.B.,

- Dinikina Yu.V., Kudlay D.A., Borozinets A.Yu. Gaucher disease in children: what has changed in the 21st century. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2019; 6 (4): 19–24. (In Russ.).
12. Zahran A.M., Saad K., Abo-Elela M.G., Eloiseily E.M., Gad E.F., Elgheet A.M.A., et al. Down-regulation of Regulatory T-cells in Children With Gaucher Disease Under Enzyme Replacement Therapy. *Clin Appl Thromb Hemost* 2019; 25: 1076029619889685. DOI: 10.1177/1076029619889685
 13. Zahran A.M., Saad K., Elsayh K.I., Abdou M.A.A., Abo-Elgheet A.M., Eloiseily E.M., et al. Upregulation of Cytotoxic T-cells in pediatric patients with Gaucher disease. *Sci Rep* 2022; 12 (1): 4977. DOI: 10.1038/s41598-022-08843-4
 14. Zahran A.M., Youssef M.A.M., Shafik E.A., Zahran Z.A.M., El-Badawy O., Abo Elgheet A.M., Elsayh K.I. Downregulation of B regulatory cells and upregulation of T helper 1 cells in children with Gaucher disease undergoing enzyme replacement therapy. *Immunol Res* 2020; 68 (2): 73–80. DOI: 10.1007/s12026-020-09129-5
 15. Klein A.D., Outeiro T.F. Glucocerebrosidase mutations disrupt the lysosome and now the mitochondria. *Nat Commun* 2023; 14 (1): 6383.
 16. Baden P., Perez M.J., Raji H., Bertoli F., Kalb S., Illescas M., et al. Glucocerebrosidase is imported into mitochondria and preserves complex I integrity and energy metabolism. *Nat Commun* 2023; 14 (1): 1930. DOI: 10.1038/s41467-023-37454-4
 17. Курбатова О.В., Петричук С.В., Купцова Д.Г., Радыгина Т.В., Семикина Е.Л., Потапов А.С. Возрастные особенности субпопуляционного состава и метаболизма лимфоцитов у детей с болезнью Вильсона–Коновалова. *Кремлевская медицина. Клинический вестник* 2023; 2: 5–11. DOI: 10.48612/cgma/a5rxevxd-xkk9 [Kurbatova O.V., Petrichuk S.V., Kuptsova D.G., Radygina T.V., Semikina E.L., Potapov A.S. Age-related features of subpopulation composition and lymphocyte metabolism in children with Wilson–Konovalov disease. *Kremlin Medicine Journal* 2023; 2: 5–11. (In Russ.).]
 18. Курбатова О.В., Измайлова Т.Д., Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Полякова С.И., Мирошкина Л.В., и др. Митохондриальная дисфункция у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2014; 69 (7–8): 78–84. DOI: 10.15690/vramn.v69i7-8.1112 [Kurbatova O.V., Izmailova T.D., Surkov A.N., Namazova-Baranova L.S., Polyakova S.I., Miroshkina L.V., et al. Mitochondrial dysfunction in children with hepatic forms of glycogen storage disease. *Annals of the Russian academy of medical sciences* 2014; 69 (7–8): 78–84. (In Russ.).]
 19. Giraldo P., Alfonso P., Irún P., Gort L., Chabás A., Vilageliu L., et al. Mapping the genetic and clinical characteristics of Gaucher disease in the Iberian Peninsula. *Orphanet J Rare Dis* 2012; 7 (1): 17. DOI: 10.1186/1750-1172-7-17
 20. Nalysnyk L., Rotella P., Simeone J.C., Hamed A., Weinreb N. Gaucher disease epidemiology and natural history: a comprehensive review of the literature. *Hematology* 2017; 22 (2): 65–73. DOI: 10.1080/10245332.2016.1240391
 21. Дегтерев М.Б., Смоллов М.А., Вишневецкий А.Ю., Шукуров Р.Р. Физико-химическая характеристика имиглюцеразы биоаналогичного и референтного препарата масс-спектрометрическими методами. В кн.: *Биотехнология: состояние и перспективы развития. Материалы международного конгресса*. М.; 2019. С. 302–303. [Degterev M.B., Smolov M.A., Vishnevskiy A.Yu., Shukurov R.R. Physico-chemical characterization of imiglucerase bio-analogous and reference preparation by mass spectrometric methods. In: *Biotechnology: state and development prospects. Proceedings of the International Congress*. Moscow; 2019. Pp. 302–303. (In Russ.).]
 22. Сысоева Е.П., Пономарев Р.В., Лукина К.А., Чавынчак Р.Б., Короткова С.Б., Жилыева М.В. и др. Оценка эффективности и безопасности биоаналогичного препарата Глуразим (имиглюцераза) у больных болезнью Гоше I типа. *Гематология и трансфузиология* 2020; 65 (1): 8–23. [Sysoeva E.P., Ponomarev R.V., Lukina K.A., Chavynchak R.B., Korotkova S.B., Zhilyaeva M.V., et al. Evaluation of the effectiveness and safety of the biosimilar drug Glurazym (imiglucerase) in patients with type I Gaucher disease. *Hematologiya i transfuziologiya* 2020; 65 (1): 8–23. (In Russ.).]
 23. Фитилёв С.Б., Возжаев А.В., Шкрёбнева И.И., Кудлай Д.А., Гапченко Е.В., Маркова О.А., и др. Результаты открытого рандомизированного сравнительного перекрестного клинического исследования I фазы по оценке безопасности и фармакокинетики препарата Глуразим® (имиглюцераза) в сравнении с референтным препаратом у здоровых добровольцев. *Онкогематология* 2019; 14 (4): 73–83. DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-4-73-83 [Fitilev S.B., Vozzhaev A.V., Shkrebneva I.I., Kudlay D.A., Gapchenko E.V., et al. Results of a phase I open randomized comparative crossover clinical trial to assess the safety and pharmacokinetics of Glurazyme® (imiglucerase) in comparison with the reference product in healthy volunteers. *Oncohematology* 2019; 14 (4): 73–83. (In Russ.).]
 24. Петричук С.В., Измайлова Т.Д., Радыгина Т.В. Способ измерения митохондриальной активности лимфоцитов. Патент на изобретение RU 2302635 C1, 10.07.2007. Заявка №2005141145/15 от 28.12.2005. [Petrichuk S.V., Izmailova T.D., Radygina T.V. Method for measuring the mitochondrial activity of lymphocytes. Patent for invention RU 2302635 C1, 10.07.2007. Application No. 2005141145/15 dated 12/28/2005. (In Russ.).]
 25. Highton A.J., Schuster I.S., Degli-Esposti M.A., Altfeld M. The role of natural killer cells in liver inflammation. *Semin Immunopathol* 2021; 43 (4): 519–33. DOI: 10.1007/s00281-021-00877-6
 26. Pandey M.K., Rani R., Zhang W., Setchell K., Grabowski G.A. Immunological cell type characterization and Th1–Th17 cytokine production in a mouse model of Gaucher disease. *Mol Genet Metab* 2012; 106 (3): 310–22. DOI: 10.1016/j.ymgme.2012.04.020
 27. Wilson A.N., Mosure S.A., Solt L.A. A Compass to Guide Insights into Th17 Cellular Metabolism and Autoimmunity. *Immunometabolism*. 2022; 4 (1): e220001. DOI: 10.20900/immunometab20220001

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-139-145

Приапизм в дебюте острого лимфобластного лейкоза у ребенка 12 лет

А.Д. Инёшина¹, А.С. Капустина¹, А.Ю. Смирнова¹, Е.А. Гринь², Г.Г. Бараташвили¹, И.М. Каганцов¹, Ю.В. Диникина¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²Городской центр эндоскопической урологии и новых технологий СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святого Луки», Санкт-Петербург

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) является самым распространенным онкологическим заболеванием в практике детского онколога/гематолога. При этом жизнеугрожающим осложнением в дебюте ОЛЛ может быть гиперлейкоцитоз с формированием лейкостаза с различными клиническими проявлениями. Крайне редкой формой лейкостаза у детей с ОЛЛ является ишемический приапизм. В таких случаях помимо рисков летальности, ассоциированной с гиперлейкоцитозом в рамках основного заболевания, отсутствие адекватного объема своевременной специфической и сопроводительной терапии может стать причиной эректильной дисфункции/импотенции/перемежающегося приапизма в отдаленном периоде. В статье представлено крайне редкое клиническое наблюдение ишемического приапизма у пациента 12 лет в дебюте ОЛЛ как единственного симптома заболевания, явившегося причиной обращения за медицинской помощью. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях. В статье проанализированы особенности течения указанного осложнения с описанием современных подходов к лечению и обзором данных международной литературы. Нами подчеркнуты необходимость скоромощного реагирования ввиду критического прогностического значения сроков и объема оказываемой медицинской помощи в составе мультидисциплинарной команды специалистов.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, приапизм, гиперлейкоцитоз, лейкоцитаферез

Инёшина А.Д. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 139–45. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-139-145

Priapism at the onset of acute lymphoblastic leukemia in a 12-year-old child

A.D. Inyoshina¹, A.S. Kapustina¹, A.Yu. Smirnova¹, E.A. Grin², G.G. Baratashvili¹, I.M. Kagantsov¹, Yu.V. Dinikina¹

¹The Almazov National Medical Research Centre of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

²Center for Endoscopic Urology and New Technologies at the St. Luke Clinical Hospital, Saint Petersburg

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common cancer in the clinical practice of pediatric oncology/hematology. At the onset of the disease, patients can develop such a life-threatening complication as hyperleukocytosis with leukostasis that can manifest in many different ways, including ischemic priapism, an extremely rare type of leukostasis in children with ALL. Apart from death associated with hyperleukocytosis caused by the underlying disease, inadequate and poorly timed specific therapy and supportive care can lead to erectile dysfunction, impotence or intermittent priapism in the future. In this article, we report an extremely rare clinical case of ischemic priapism in a 12-year-old patient that developed at the onset of ALL and was the only manifestation of the disease as well as the reason for admission to hospital. The patient's parents gave consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications. Here, we analyzed special aspects of this complication, described modern treatment strategies and provided an international literature review. We emphasize the importance of urgent care delivery due to the critical prognostic significance of timely and adequate treatment provided by a multidisciplinary team.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, children, priapism, hyperleukocytosis, leukapheresis

Inyoshina A.D., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 139–45. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-139-145

На сегодняшний день острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) занимает первое место в структуре детской онкологической заболеваемости, составляя около 25% всех случаев злокачественных новообразований и до 6% у пациентов подросткового возраста [1, 2].

Симптомы ОЛЛ и ассоциированные осложнения, как правило, неспецифичны, тем не менее могут являться причиной жизнеугрожающих состояний, одним из которых является гиперлейкоцитоз (ГЛ) с

лейкостазом (ЛС). Несмотря на отсутствие четких диагностических критериев, большинством авторов понятие ГЛ определяется как количество лейкоцитов более $100 \times 10^9/\text{л}$ [3–5], при этом критическим его проявлением является ЛС, обуславливающий последующую гипоперфузию органов-мишеней [6]. Стоит заметить, что при определенных видах лейкозов симптомы ЛС могут возникать и при менее выраженном ГЛ. Так, например, у пациентов с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) симптомы, ассоци-

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 23.03.2023

Принята к печати 16.01.2024



EDN: NHEZDE

Контактная информация:

Диникина Юлия Валерьевна, канд. мед. наук, заведующая отделением химиотерапии онкогематологических заболеваний и трансплантации костного мозга для детей ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России
Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2
E-mail: dinikina_yuv@almazovcentre.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 23.03.2023

Accepted 16.01.2024

Correspondence:

Yulia V. Dinikina, Cand. Med. Sci., Head of the Department of Chemotherapy for Cancer and Hematologic Diseases and Bone Marrow Transplantation in Children at the Almazov National Medical Research Center of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 2 Akkuratova St., St. Petersburg 197341, Russia
E-mail: dinikina_yuv@almazovcentre.ru

ированные с ЛС, могут развиваться при повышении уровня лейкоцитов периферической крови более $50 \times 10^9/\text{л}$, тогда как у пациентов с ОЛЛ такой лейкоцитоз зачастую может оставаться бессимптомным [5] до повышения порогового числа лейкоцитов $\geq 400 \times 10^9/\text{л}$ [7]. ГЛ с вариабельной частотой встречается при ОЛЛ у детей (10–30%), при этом преимущественно в дебюте Т-клеточного ОЛЛ, ОЛЛ с t(4; 11) и t(9; 22) [8, 9].

Патофизиология ЛС на сегодняшний день до конца не определена, тем не менее наиболее значимыми являются 2 теории. Согласно реологической концепции, вязкость крови обусловлена 2 факторами: деформируемостью форменных элементов крови и объемом клеточной фракции. Менее пластичные, крупные бластные клетки по сравнению со зрелыми лейкоцитами, проходя микроциркуляторное русло в условиях высокого лейкокрита, ведут к полной или частичной окклюзии сосудов. В рамках данной теории объясняется и большая частота встречаемости симптомного ГЛ при ОМЛ в сравнении с ОЛЛ или хроническими лейкозами, поскольку миелобласты – крупные, слабо деформируемые клетки, что определяет возникновение ЛС при более низких уровнях лейкоцитов периферической крови [10]. Другая концепция основана на особенностях взаимодействия бластов и эндотелия сосудов, активации эндотелиальных клеток цитокинами (TNF- α и IL-1), секретируемыми бластами, и усилении адгезии специфическими рецепторами эндотелия сосудов – селектинами, молекулами межклеточной адгезии (ICAM-1) и адгезии сосудистого эндотелия-1 (VCAM-1). В результате формируются агрегаты бластных клеток, окклюдующие сосуды, вызывая ишемическое повреждение тканей и органов-мишеней [11].

Наиболее часто при ЛС имеет место поражение легких с развитием дыхательной недостаточности, формированием диффузных интерстициальных или альвеолярных инфильтратов, а также центральной нервной системы с различными неврологическими нарушениями, вплоть до нарушения сознания тяжелой степени [6]. К редким проявлениям относят острую ишемию миокарда и нижних конечностей, тромбоз почечных вен, инфаркты кишечника, лихорадку и приапизм [12].

Приапизм является патологическим состоянием, представляющим собой длительную болезненную эрекцию, которая сохраняется более 4 ч и не связана с сексуальным возбуждением или стимуляцией [13]. Выделяют ишемическую (low flow) форму, встречающуюся примерно в 80–90% случаев приапизма, и неишемическую (high flow), на долю которой приходится 10–20% случаев [14]. При ишемической форме нарушается вено-кавернозный отток, что ведет к

стазу крови, ацидозу и гипоксии тканей. При отсутствии адекватного объема лечения в течение 12 ч развивается интерстициальный отек, за 24–48 ч формируются фиброзирующие изменения кавернозных тел, в будущем проявляющиеся эректильной дисфункцией (ЭД) [15, 16]. Согласно литературным данным, приапизм продолжительностью 5–10 дней приводит к импотенции у 35–90% мужчин [17].

В детской практике приапизм встречается крайне редко, наиболее частыми причинами являются серповидно-клеточная анемия (65%), лейкозы (10%), травмы (10%), а также идиопатическая (10%) и лекарственно-индуцированная (5%) формы [18]. Большинство случаев приапизма на фоне ГЛ связано с ОМЛ, в то время как при ОЛЛ данное осложнение развивается крайне редко [9, 19].

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациент Д., 12 лет, заболел остро, когда утром на фоне полного здоровья при попытке дефекации обратил внимание на эрекцию, длительно не проходящую при последующем наблюдении. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях. После консультации педиатра в тот же день ребенок был госпитализирован в отделение урологии городской больницы по месту жительства. При осмотре половой член был эрегирован, умеренно болезненный при пальпации (рисунки 1). Пациенту выполнялась консервативная терапия в объеме очистительной клизмы, обезболивания, введения транквилизаторов и локальной гипотермии полового члена. На фоне проводимого лечения болевой синдром был полностью купирован, тем не менее эрекция сохранялась. Учитывая отсутствие полного клинического ответа на консервативную терапию в течение первых суток госпитализации, была выполнена пункция кавернозных тел с введением адrenomиметиков с умеренным эффектом в виде купирования эрекции. По результатам дообследования в гемограмме выявлены тромбоцитопения II степени (тромбоциты $68 \times 10^9/\text{л}$), гиперлейкоцитоз (лейкоциты $171,9 \times 10^9/\text{л}$) с бластозом (96%) в периферической крови.

На следующие сутки у пациента при осмотре выявлены выраженный отек полового члена, множественные подкожные гематомы, сохранялись частичная эрекция, болезненность при осмотре. В связи с подозрением на ОЛЛ и тяжестью клинической ситуации на 3-и сутки ребенок госпитализирован в отделение химиотерапии онкогематологических заболеваний и трансплантации костного мозга для детей ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава

России. На момент поступления состояние ребенка было тяжелым в первую очередь за счет острой задержки мочи (более 6 ч) на фоне сохраняющейся эрекции (56 ч), болевого синдрома и гиперлейкоцитоза (лейкоциты $507 \times 10^9/\text{л}$). При осмотре полового члена (рисунок 2А, Б) выявлены отек крайней плоти со сдавливанием головки полового члена, синюшность, крайне выраженная болезненность, множественные участки мацерации.

В экстренном порядке ребенку в условиях медикаментозной седации выполнена пункционная эпицистостомия с одномоментной эвакуацией 400 мл

Рисунок 1

Симптом приапизма на момент первичного обращения пациента к врачу по месту жительства

Figure 1

Priapism at the initial presentation at local hospital



Рисунок 2

Длительность эпизода приапизма 56 ч, отмечаются отек крайней плоти со сдавливанием головки полового члена, участки повреждения кожи

Figure 2

Priapism lasting 56 hours, swelling of the foreskin with compression of the glans penis, skin lesions



мочи, инициирована гипергидратация с профилактикой синдрома острого лизиса опухоли (СОЛО). С учетом длительно сохраняющейся эрекции и крайне высоких рисков формирования фиброза кавернозных тел было принято решение о проведении трансглангулярной катетеризации кавернозных тел полового члена с ирригацией симпатомиметиков. По причине выраженного отека крайней плоти, не позволяющего обнажить головку полового члена, было проведено дорсальное рассечение крайней плоти с наложением гемостатических узловых швов (рисунок 3). При помощи 2 инфузионных катетров (игла-бабочка 18G) с удлинителями венофикс проведена катетеризация обоих кавернозных тел через головку полового члена с получением густой темной крови (рисунок 4). Далее произведены повторные ирригации (двукратно) кавернозных тел раствором адреналина в разведении с 0,9% раствором натрия хлорида (1:200) общим объемом 60 мл. Также дополнительно интракавернозно вводился фраксипарин (0,8 мл). На фоне проводимых манипуляций отмечено наличие стойкой детумесценции (рисунок 5).

Спустя 5 ч из мест пункции кавернозных тел на головке полового члена отмечалось струйное подтекание алой крови, что потребовало наложения Z-образных швов викрилом на места вколов.

После завершения хирургических манипуляций выполнена процедура аппаратного лейкоцитафе-

Рисунок 3

Рассечение обоих листков крайней плоти по дорсальной поверхности

Figure 3

Dissection of both layers of the foreskin on the dorsal surface

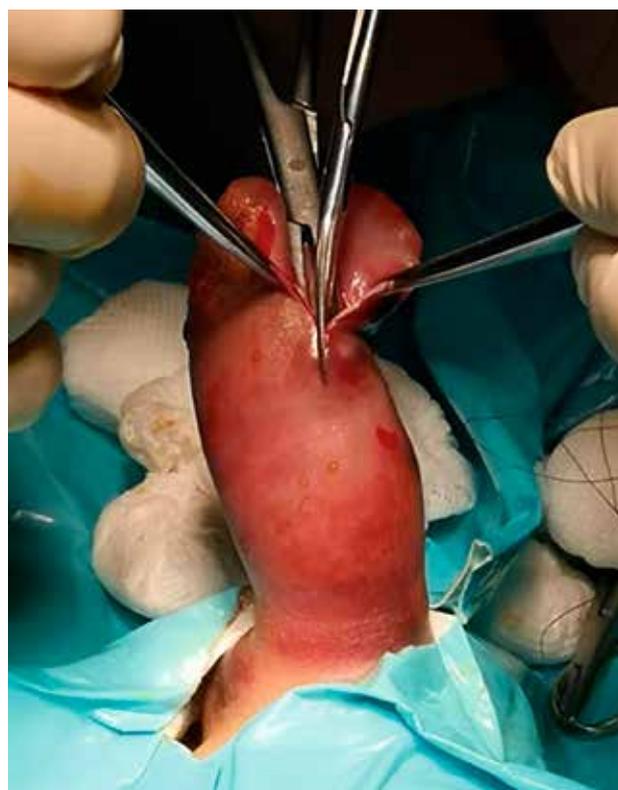


Рисунок 4
Пункция обоих кавернозных тел через головку полового члена

Figure 4
Puncture of both corpora cavernosa through the glans penis



Рисунок 5
Стойкая детумесценция после проведения трансгландулярной пункции кавернозных тел полового члена

Figure 5
Sustained detumescence after the puncture of the corpora cavernosa through the glans penis



реза и на фоне продолжающейся сопроводительной терапии инициирована циторедуктивная профаза. В течение первых 8 ч пребывания в стационаре удалось достичь 2-кратной редукции числа лейкоцитов до $231 \times 10^9/\text{л}$.

По результатам выполненного обследования у пациента был установлен диагноз В-клеточного ОЛЛ (В1-вариант) с коэкспрессией CD15 и t(4;11) с поражением центральной нервной системы. В результате проводившегося комплексного лечения в виде специфической противоопухолевой терапии и ежедневных процедур аппаратного экстракорпорального лейкоцитафереза (№3) в течение 3 дней удалось достичь нормализации числа лейкоцитов ($4 \times 10^9/\text{л}$), купирования приапизма и восстановления самостоятельного мочеиспускания. На 36-й день индукционной терапии зафиксирована первая клинико-гематологическая, МОБ (минимальная остаточная болезнь)-позитивная ремиссия.

На 38-е сутки от дебюта заболевания с косметической целью проведено циркулярное иссечение крайней плоти (рисунок 6). Послеоперационная рана зажила первичным натяжением. Противоопухолевая терапия была продолжена согласно группе риска, последующее наблюдение не выявило нарушений со стороны полового члена. Со слов мальчика, отмечаются утренние безболезненные тумесценции, что может свидетельствовать о сохранении эректильной функции.

Рисунок 6
Состояние после циркулярного иссечения крайней плоти

Figure 6
The patient's penis after the circumcision



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Представленный нами клинический случай демонстрирует крайне редкое и нехарактерное осложнение ГЛ при ОЛЛ у пациентов детского возраста [20]. Развитие приапизма у ребенка было обусловлено застоем крови в кавернозных телах полового члена, приведшее к ишемизации окружающей гладкой мускулатуры, развитию выраженного болевого синдрома и острой задержке мочи. Еще одной возможной причиной стаза крови у пациентов с гемобластозами, по данным литературы, может являться сдавление внутрибрюшных венозных сосудов вследствие спленомегалии [15], однако у нашего пациента таковой диагностировано не было.

Ввиду редкости указанного осложнения единых стандартов оказания медицинской помощи пациентам с приапизмом, ассоциированным с гемобластозами, нет. Тем не менее очевидно, что терапевтическая тактика должна быть направлена на инициацию в кратчайшие сроки противоопухолевой терапии в целях купирования ГЛ, в то время как использование хирургического лечения должно быть минимизировано и использовано только в случае отсутствия эффекта на фоне проводимого консервативного лечения и сохраняющегося приапизма в целях снижения рисков последующих фиброзирующих изменений и ЭД [21]. Необходимый объем терапии должен включать высокообъемную инфузионную терапию на фоне специфической циторедукции с использованием кортикостероидов и/или цитостатиков в комбинации с процедурами лейкоцитафереза (в зависимости от уровня лейкоцитоза) [22].

Гипергидратация направлена на купирование повышенной вязкости крови и профилактику СОЛО. Несмотря на обнадеживающую методику лейкоцитафереза как опции быстрой циторедукции (снижение циркулирующих лейкоцитов на 20–50%) [23] в исследовании Ganiel и соавт. был продемонстрирован ее кратковременный эффект с последующим быстрым нарастанием числа лейкоцитов [24]. Использование лейкоцитафереза является эффективным, но кратковременным методом циторедукции, что определяет необходимость его комбинации с гормональной и/или химиотерапией [23].

Нельзя забывать, что пациенты данной когорты имеют повышенный риск развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания и СОЛО с частотой до 10% случаев [6], что требует использования массивной сопроводительной терапии, включающей коррекцию электролитного дисбаланса, гипергидратацию, профилактику/лечение гиперурикемии, контроль гемостаза [21].

При наличии абсолютных показаний к хирургической коррекции начальный этап, как правило, заключается в выполнении аспирации крови, ирригации кавернозных тел физиологическим раствором с гепаринизацией, интракавернозных инъекций симпатомиметиков в целях детумесценции. Эвакуация крови путем корпоральной аспирации позволяет в короткие сроки купировать компартмент-синдром [25]. При этом к клиническим признакам, указывающим на неэффективность вмешательства первой линии, относятся сохраняющаяся эрекция, ацидоз при тестировании кавернозных газов крови, отсутствие притока крови в кавернозную артерию полового члена при оценке с помощью ультразвуковой доплерографии или повышенное внутрикорпоральное давление. Если длительность приступа составляет более 24 ч, при недостаточном ответе на проводимое лечение в течение 1 ч рекомендовано шунтирование кавернозных тел (терапия второй линии) [25]. Показания обусловлены обширной деструкцией кавернозного эндотелия, нарастанием некроза гладкомышечных клеток, развитием необратимых фибротических изменений в период с 24 до 48 ч сохраняющейся эрекции [26]. Ишемический приапизм длительностью более 48 ч не разрешится при использовании интракавернозных инъекций симпатомиметиков/ирригации кавернозных тел, что требует выполнения немедленного хирургического шунтирования после пробной интракавернозной инъекции/ирригации у этих больных [13].

В отдаленном периоде при условии наличия у пациента ЭД, связанной с фибротическими изменениями после эпизода приапизма, возможно рассмотрение вопроса о протезировании полового члена [27, 28].

На наш взгляд, в представленном случае главной ошибкой начального этапа лечения была длительная задержка начала циторедуктивной терапии, что послужило причиной нарастания лейкоцитоза и утяжеления степени ЛС. В целях купирования приапизма изначально была выбрана хирургическая тактика с использованием интракавернозного введения симпатомиметиков, что не имело клинической эффективности, а способствовало формированию отека и массивных подкожных гематом полового члена, развитию выраженного болевого синдрома, невозможности самостоятельного мочеиспускания. Длительность нарастающего ГЛ и ассоциированного приапизма у нашего пациента составила более 48 ч, что являлось фактором высочайшего риска развития других жизнеугрожающих осложнений, а также формирования в отдаленные сроки ЭД/импотенции/перемежающегося приапизма [6]. Обеспечение гипергидратации на фоне адекватного диуреза является одним из основных аспектов купи-

рования ЛС и в данном случае с учетом приапизма тяжелой степени могло быть достигнуто только путем наложения эпицистостомы. Применение аппаратного лейкоцитафереза в комбинации с консервативной терапией в первую очередь было продиктовано крайне высоким лейкоцитозом ($> 500 \times 10^9/\text{л}$), сопутствующим тяжелым проявлением ЛС (приапизм) и высокой вероятностью развития осложнений со стороны других органов и систем, продемонстрировав свою эффективность. Можно предположить, что своевременное начало специфической терапии с должным объемом сопроводительного лечения могло способствовать купированию приапизма на фоне ГЛ только консервативным путем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приапизм – крайне редкое патологическое состояние у детей, этиологическим фактором которого в большинстве случаев является ГЛ на фоне онкогематологических заболеваний. Использование рутинных методов лабораторной диагностики определяет своевременность верификации патологии системы крови у ребенка и инициации патогенетического лечения.

Для ишемического приапизма, ассоциированного с ГЛ при острых лейкозах, основным методом терапии является циторедукция, которая в первую очередь может быть достигнута инициацией гормональной и химиотерапии на фоне адекватного объема сопроводительного лечения в комбинации с лейкоцитаферезом. Хирургическое лечение приапизма является вспомогательным методом и используется только в целях быстрой детумесценции и предотвращения необратимого повреждения кавернозных тел, что способствует сохранению эректильной функции.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение №075-15-2022-301).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Ineshina A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7794-9095>
Kapustina A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6758-1546>
Smirnova A.Yu. ORCID: <https://www.orcid.org/0000-0002-5293-9568>
Grin E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8685-6525>
Kagantsov I.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3957-1615>
Dinikina Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2003-0982>

Литература

- Hunger S.P., Mullighan C.G. Acute lymphoblastic leukemia in children. *N Engl J Med* 2015; 373 (16): 1541–52. DOI: 10.1056/NEJMra1400972
- Пшонкин А.В., Румянцева Ю.В., Литвинов Д.В., Карелин А.Ф., Бойченко Э.Г., Лагойко С.Н. и др. Лечение острого лимфобластного лейкоза у подростков и молодых взрослых: опыт Москва–Берлин. *Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО)* 2016; 3 (1): 35–43. DOI: 10.17650/2311-1267-2016-3-1-35-43 [Pshonkin A.V., Rumyantseva Yu.V., Litvinov D.V., Karelin A.F., Boychenko E.G., Lagoyko S.N., et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults: the experience of the Moscow–Berlin. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2016; 3 (1): 35–43. (In Russ.)].
- Ganzel C., Becker J., Mintz P.D., Lazarus H.M., Rowe J.M. Hyperleukocytosis, leukostasis and leukapheresis: practice management. *Blood Rev* 2012; 26 (3): 117–22. DOI: 10.1016/j.bre.2012.01.003
- Pham H.P., Schwartz J. How we approach a patient with symptoms of leukostasis requiring emergent leukocytapheresis. *Transfusion* 2015; 55 (10): 2306–11. DOI: 10.1111/trf.13210
- Stahl M., Shallis R.M., Wei W., Montesinos P., Lengline E., Neukirchen J., et al. Management of hyperleukocytosis and impact of leukapheresis among patients with acute myeloid leukemia (AML) on short- and long-term clinical outcomes: a large, retrospective, multicenter, international study. *Leukemia* 2020; 34 (12): 3149–60. DOI: 10.1038/s41375-020-0783-3
- Spring J., Munshi L. Oncologic Emergencies: Traditional and Contemporary. *Crit Care Clin* 2021; 37 (1): 85–103. DOI: 10.1016/j.ccc.2020.08.004
- Zuckerman T., Ganzel C., Tallman M.S., Rowe J.M. How I treat hematologic emergencies in adults with acute leukemia. *Blood* 2012; 120 (10): 1993–2002. DOI: 10.1182/blood-2012-04-424440
- Korkmaz S. The management of hyperleukocytosis in 2017: Do we still need leukapheresis? *Transfus Apher Sci* 2018; 57 (1): 4–7. DOI: 10.1016/j.transci.2018.02.006
- Porcu P., Cripe L.D., Ng E.W., Bhatia S., Danielson C.M., Orazi A., McCarthy L.J. Hyperleukocytic leukemias and leukostasis: a review of pathophysiology, clinical presentation and management. *Leuk Lymphoma* 2000; 39 (1–2): 1–18. DOI: 10.3109/10428190009053534

10. Lichtman M.A., Rowe J.M. Hyperleukocytotic leukemias: rheological, clinical, and therapeutic considerations. *Blood* 1982; 60 (2): 279–83.
11. Stucki A., Rivier A.S., Gikic M., Monai N., Schapira M., Spertini O. Endothelial cell activation by myeloblasts: molecular mechanisms of leukostasis and leukemic cell dissemination. *Blood* 2001; 97 (7): 2121–9. DOI: 10.1182/blood.v97.7.2121
12. Ganzel C., Becker J., Mintz P.D., Lazarus H.M., Rowe J.M. Hyperleukocytosis, leukostasis and leukapheresis: practice management. *Blood Rev* 2012; 26 (3): 117–22. DOI: 10.1016/j.blre.2012.01.003
13. Montague D.K., Jarow J., Broderick G.A., Dmochowski R.R., Heaton J.P., Lue T.F., et al. American Urological Association guideline on the management of priapism. *J Urol* 2003; 170 (4 Pt 1): 1318–24. DOI: 10.1097/01.ju.0000087608.07371.ca
14. Broderick G.A., Kadioglu A., Bivalacqua T.J., Ghanem H., Nehra A., Shamloul R. Priapism: pathogenesis, epidemiology, and management. *J Sex Med* 2010; 7 (1 Pt 2): 476–500. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2009.01625.x
15. Rodgers R., Latif Z., Copland M. How I manage priapism in chronic myeloid leukaemia patients. *Br J Haematol* 2012; 158 (2): 155–64. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2012.09151.x
16. Vilke G.M., Harrigan R.A., Ufberg J.W., Chan T.C. Emergency evaluation and treatment of priapism. *J Emerg Med* 2004; 26 (3): 325–9. DOI: 10.1016/j.jemermed.2003.12.011
17. Mulhall J.P., Honig S.C. Priapism: etiology and management. *Acad Emerg Med* 1996; 3 (8): 810–6. DOI: 10.1111/j.1553-2712.1996.tb03520.x
18. Donaldson J.F., Rees R.W., Steinbrecher H.A. Priapism in children: a comprehensive review and clinical guideline. *J Pediatr Urol* 2014; 10 (1): 11–24. DOI: doi.org/10.1016/j.jpuro.2013.07.024
19. Gokce A., Gul D., Orhan M.F., Büyükcavci M., Demir G., Beyaz S.G. Epidural blockade for alternative management of priapism: A case report of child with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Urology* 2021; 156: e121–3. DOI: 10.1016/j.urolgy.2021.06.017
20. Vadakan V.V., Ortega J. Priapism in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 1972; 30 (2): 373–75. DOI: 10.1002/1097-0142(197208)30:2<373::aid-cn-cr2820300211>3.0.co;2-g
21. van der Velde M.G.A.M., Tiellemans S.M.B, de Lil H., Nieuwenhuizen L. The value of leukapheresis for treatment of priapism as presenting feature of chronic myeloid leukemia-Case report and review of literature. *EJHaem* 2022; 3 (4): 1100–15. DOI: 10.1002/jha2.545
22. Röllig C., Ehninger G. How I treat hyperleukocytosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2015; 125 (21): 3246–52. DOI: 10.1182/blood-2014-10-551507
23. Ruggiero A., Rizzo D., Amato M., Riccardi R. Management of Hyperleukocytosis. *Curr Treat Options Oncol* 2016; 17 (2): 7. DOI: 10.1007/s11864-015-0387-8
24. Ganzel C., Becker J., Mintz P.D., Lazarus H.M., Rowe J.M. Hyperleukocytosis, leukostasis and leukapheresis: practice management. *Blood Rev* 2012; 26 (3): 117–22. DOI: 10.1016/j.blre.2012.01.003
25. Levey H.R., Segal R.L., Bivalacqua T.J. Management of priapism: an update for clinicians. *Ther Adv Urol* 2014; 6 (6): 230–44. DOI: 10.1177/1756287214542096
26. Burnett A.L., Sharlip I.D. Standard operating procedures for priapism. *J Sex Med* 2013; 10 (1): 180–94. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2012.02707.x
27. Capece M., Falcone M., Cai T., Palmieri A., Cocci A., La Rocca R. Penile Prosthesis Implantation in Refractory Ischaemic Priapism: Patient Selection and Special Considerations. *Res Rep Urol* 2022; 14: 1–6. DOI: 10.2147/RRU.S278807
28. Reddy A.G., Alzweri L.M., Gabrielson A.T., Leinwand G., Hellstrom W.J.G. Role of Penile Prosthesis in Priapism: A Review. *World J Mens Health* 2018; 36 (1): 4–14. DOI: 10.5534/wjmh.17040

© 2024 by «D. Rogachev
NMRCPHO1»

Received 12.08.2023
Accepted 02.10.2023



EDN: NUYGYP

Correspondence:

Amal Elleuch,
MD, Department of Pediatric Emergency
and Reanimation, Hedi Chaker Hospital,
University of Sfax, Sfax, Tunisia
Address: El Ain, 30219 Sfax, Tunisia
E-mail: amalleuch@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-146-148

Triosephosphate isomerase deficiency in a Tunisian case series

Elleuch Amal¹, Bouzid Sirine², Boujelben Imen³, Maalej Bayen¹,
Taieb Messaoudi⁴, Kammoun Hassen³, Safi Faiza¹

¹Hedi Chaker Hospital, Sfax, Tunisia

²University Hospital Habib Bourguiba, University of Sfax, Sfax, Tunisia

³University Hospital Hedi Chaker, University of Sfax, Sfax, Tunisia

⁴Béchar-Hamza Children's Hospital, Tunis, Tunisia

Triosephosphate isomerase deficiency (TPID) is the most severe glycolytic enzyme defect associated with a progressive neurologic dysfunction. It typically causes hemolytic anemia, neurodegeneration, and recurrent bacterial infections. TPID is caused by a homozygous or a compound heterozygous mutation in the TPID gene. The most frequent variant is Glu104Asp. We report a case series from three unrelated Tunisian families affected by TPID caused by a homozygous Glu104Asp mutation. These reported cases had severe hemolytic anemia. Informed consent was obtained from patients' parents.

Key words: *triosephosphate isomerase deficiency, homozygous mutation, hemolytic anemia, pediatrics*

Elleuch Amal, et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 146–8.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-146-148

Triosephosphate isomerase (TPI) deficiency (TPID) is a rare multisystem disorder characterized by congenital hemolytic anemia and progressive neuromuscular dysfunction beginning in early childhood [1–6]. Most of described cases die from respiratory failure in childhood [3]. The neurologic syndrome is variable. However, it commonly includes a lower motor neuron dysfunction with hypotonia, muscle weakness and atrophy, and hyporeflexia. Some patients may show additional signs such as dystonic posturing and/or spasticity. Laboratory studies show a defect of TPI activity (< 30%) and increased dihydroxyacetone phosphate level, particularly in red blood cells [4].

TPID is an autosomal recessive disorder caused by a mutation in the *TP11* gene (OMIM 190450) on chromosome 12p13.31. The most common variant is a point mutation at codon 104 changing Glu to Asp, manifested in homozygous or compound heterozygous states. This variant accounts for around 80% of clinical TPID and causes the most severe phenotype [7].

We report three unrelated Tunisian families with TPID caused by a homozygous Glu104Asp mutation of the *TP11* gene.

CASE REPORTS

Informed consent was obtained from patients' parents.

Family A

A 13-month-old female infant (VII-2; *figure*) presented to the pediatrics emergency department with dyspnea and fever. She was born from a twin pregnancy. Her parents were healthy and non-consanguineous.

Her medical history consisted of jaundice at birth requiring a transfusion at one day of age. At six months

of age, she was diagnosed with autoimmune hemolytic anemia of unknown etiology. At the age of ten months, she was hospitalized with severe acute bronchiolitis requiring invasive ventilation.

At admission, the physical examination showed respiratory failure with stable neurological and hemodynamic status. The patient started urgent treatment with oxygen and antibiotics. Nevertheless, the respiratory state rapidly worsened, and the infant was intubated. Two days later, the infant developed seizures (treated with benzodiazepine). Thus, a brain scan and a lumbar puncture were performed and the findings were normal. The blood tests showed hyperlactatemia, with no other abnormalities. But the electroencephalography showed diffuse slow-wave activity without paroxysm. An MRI was done and revealed bilateral signal abnormalities in the globus pallidus. An immunological assessment was done and the findings were normal (blood count; N-methyl-D-aspartate antibodies; G and M immunoglobulins; the level of CD4⁺ lymphocytes, the CD4⁺/CD8⁺ ratio, lymphocyte phenotyping). A molecular analysis of the *TP11* gene was performed and showed the homozygous missense mutation at c.315 G>C (Glu104Asp). The infant died two months after her admission.

The assessment of her twin (VII-3; *figure*) detected a TPID with the same gene mutation. Three months after the death of her sister, she was hospitalized with the same symptoms. She died one week after the admission.

Family B

A 4-year-old child (III-4; *figure*) was admitted to the pediatrics emergency department with an altered state of consciousness and fever. The child was born after a normal full-term pregnancy. During gestation, no molecular tests were performed. Yet, his sister was diagnosed at the age of two with TPID and then died.

The parents were found to be heterozygous for the Glu104Asp variant of the *TPI1* gene.

From the age of one year, delayed neurological development and hemolytic anemia were diagnosed. In the second year of life, the patient was unable to walk without assistance. Distal weakness, hypotonia, and amyotrophy were noted.

At admission, this child was comatose, requiring mechanical ventilation. A cerebral CT-scan and a lumbar puncture were performed and the results were normal. DNA analysis showing the homozygous *TPI1* gene mutation at c.315 G>C (Glu104Asp) confirmed the diagnosis of TPID.

Family C

A 15-month-old child was admitted to the pediatrics emergency department with an altered state of consciousness and dyspnea. The child was born after a normal full-term pregnancy. At 6 months of age, he was diagnosed with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. His medical history included a psychomotor regression with a break in the weight curve (at 3 months of age). At admission, the child was comatose with irregular breathing requiring mechanical ventilation. A brain scan and a lumbar puncture were performed and the results were normal. The electroencephalography showed a mildly slowed rhythm and poorly structured activity which was suggestive of metabolic encephalopathy. Due to hemolytic anemia and alteration of the state of consciousness, the diagnosis of TPID was suspected. A molecular analysis of the *TPI1* gene was performed and showed a missense mutation at c.315 G>C (Glu104Asp) in homozygous state. The child died 7 days after his admission.

DISCUSSION

We have reported TPID in three unrelated families. This deficiency was initially reported in 1965, and

since then, fewer than 50 cases are described in the literature [1, 8]. The clinical manifestations were typical, and the diagnostic circumstances were similar to the cases reported in the literature [3–6, 9]. Hemolysis and progressive neurologic disease (neuromuscular impairment with spasticity or mental retardation) are noticed in almost all reported cases of TPI deficiency [5, 6, 9]. Neurological symptoms become obvious by two years of age, with motor disturbances as the most common features.

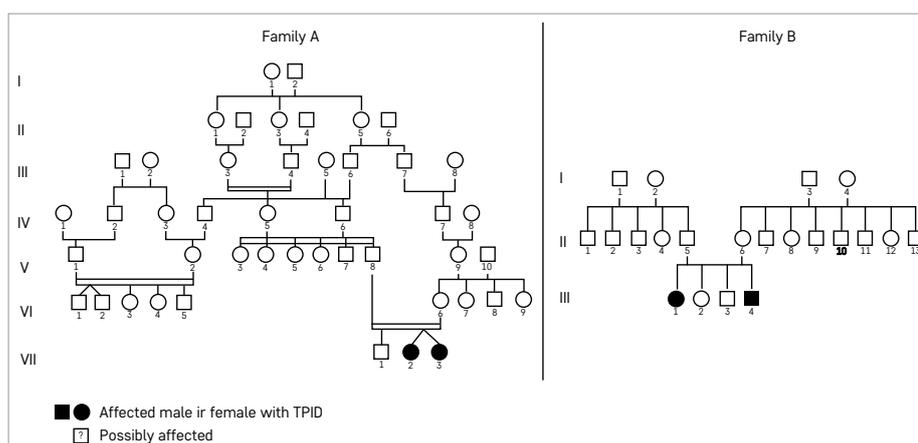
As in our cases, the outcome is commonly poor. Patients with TPI deficiency often do not survive past childhood due to respiratory failure. In a few rare cases, affected subjects have lived into adulthood; they had no severe nerve damage or muscle weakness [9].

No specific therapy exists for TPID. Symptomatic management is necessary. Mechanical ventilation in case of respiratory failure caused by diaphragmatic paralysis is possible. Blood transfusions may be indicated in the case of hemolytic anemia during episodes of hemolysis. Bone marrow transplantation is reported in rare cases [10].

The genetic transmission of the disease is autosomal recessive. Various mutations in the *TPI1* gene have been identified. The mechanisms of these mutations are thought to be a decrease in the catalytic activity of the dimers, or their dissociation into inactive monomers [11–14]. The Glu104Asp substitution is the most common pathogenic mutation accounting for approximately 80% of TPID cases [7].

Little is still known about the pathogenesis of TPID [15]. The TPI functions achieve the rapid equilibration of the triose-phosphates. These triose-phosphates are produced by aldolase in glycolysis and interconnected to lipid metabolism. The impairment of TPI activity does presumably not affect the energy metabolism at the system level; however, it results in the accumulation of dihydroxyacetone phosphate followed by its chemical conversion into the toxic methylgly-

Figure
Family tree diagram showing the affected subjects in two families



oxal, leading to the formation of advanced glycation products [3, 15].

Reported observations of compound-heterozygous cases are rare and imply that reduced TPI activity may not be sufficient to cause the disease symptoms and lower catalytic activity may be required to explain the clinical outcome [16]. Other studies suggest that the Arg189 salt bridge is critical for organizing the TPI enzyme catalytic site [17]. These researches have demonstrated that reduced TPI levels are associated with human TPID [18]. Concerning the neurological symptoms, it has been established that a synaptic vesicle is the cause of neurologic dysfunction in TPID cases. These troubles are less pronounced with catalytically inactive TPI [18].

TPID is an autosomal recessive disorder. Therefore, it has a 25% risk of recurrence in the case of two heterozygous parents. Prenatal diagnosis is proposed to ensure an early diagnosis. In addition to molecular diagnosis, TPI enzyme activity in amniotic fluid cells and fetal blood cells is measurable.

CONCLUSION

We reported 5 cases of TPID in 3 unrelated Tunisian families. In this cases, the clinical presentation consisted of a triad: progressive neurologic dysfunction, hemolytic anemia, and recurrent infections. Pediatricians have to be aware of this pathology namely to guarantee an early assessment of the genetic status of the family members.

ACKNOWLEDGEMENTS

I thank the co-authors for their expertise and assistance throughout all aspects of our study and for their help in writing the manuscript.

FUNDING

Not specified.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

ORCID

Amal Elleuch ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0897-8930>

Boujelben Imen ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3908-9300>

Safi Faiza ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7110-016X>

References

- Harris C., Nelson B., Farber D., Bickel S., Huxol H., Asamoah A., Morton R. Child Neurology: Triosephosphate isomerase deficiency. *Neurology* 2020; 95 (24): e3448–51. DOI: 10.1212/WNL.0000000000010745
- Orosz F., Oláh J., Ovádi J. Triosephosphate isomerase deficiency: New insights into an enigmatic disease. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1792: 1168–74. DOI: 10.1016/j.bbdis.2009.09.012
- Rosa R., Prehu M.-O., Calvin M.-C., Badoual J., Alix D., Girod R. Hereditary triose phosphate isomerase deficiency: seven new homozygous cases. *Hum Genet* 1985; 71: 235–40. DOI: 10.1007/BF00284582
- Oláh J., Orosz F., Puskás L.G., Hackler L., Horányi M., Polgár L., et al. Triosephosphate isomerase deficiency: consequences of an inherited mutation at mRNA, protein and metabolic levels. *Biochem J* 2005; 392: 675–83. DOI: 10.1042/BJ20050993
- Aissa K., Kamoun F., Sfaihi L., Ghedira E.S., Aloulou H., Kamoun T., et al. Hemolytic Anemia and Progressive Neurologic Impairment: Think About Triosephosphate Isomerase Deficiency. *Fetal Pediatr Pathol* 2014; 33: 234–8.
- Valentin C., Pissard S., Martin J., Heron D., Labrune P., Livet M.O., et al. Triose phosphate isomerase deficiency in 3 French families: two novel null alleles, a frameshift mutation (TPI Alfortville) and an alteration in the initiation codon (TPI Paris). *Blood* 2000; 96: 1130–5. DOI: 10.1182/blood.V96.3.1130
- Arya R., Lalloz M.R.A., Bellingham A.J., Layton D.M. Evidence for founder effect of the glu104-to-asp substitution and identification of new mutations in triosephosphate isomerase deficiency. *Hum Mutat* 1997; 10: 290–4.
- Schneider A.S., Valentine W.N., Hattori M., Heins H.L. Hereditary hemolytic anemia with triose phosphate isomerase deficiency. *N Engl J Med* 1965; 272: 229–35. DOI: 10.1056/NEJM196502042720503
- Hollan S., Fujii H., Hirono A., Hirono K., Karro H., Miwa S., et al. Hereditary triosephosphate isomerase (TPI) deficiency: two severely affected brothers one with and one without neurological symptoms. *Hum Genet* 1993; 92: 486–90. DOI: 10.1007/bf00216456
- Conway A.J., Brown F.C., Hortle E.J., Burgio G., Foote S.J., Morton C.J., et al. Bone marrow transplantation corrects haemolytic anaemia in a novel ENU mutagenesis mouse model of TPI deficiency. *Dis Model Mech* 2018; 11: dmm034678. DOI: 10.1242/dmm.034678
- Daar I.O., Artymiuk P.J., Phillips D.C., Maquat L.E. Human triose-phosphate isomerase deficiency: a single amino acid substitution results in a thermolabile enzyme. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83 (20): 7903–7. DOI: 10.1073/pnas.83.20.7903
- Ralser M., Heeren G., Breitenbach M., Lehrach H., Krobitsch S. Triose Phosphate Isomerase Deficiency Is Caused by Altered Dimerization–Not Catalytic Inactivity–of the Mutant Enzymes. *PLoS One* 2006; 1: e30. DOI: 10.1371/journal.pone.0000030
- Serdaroglu G., Aydinok Y., Yilmaz S., Manco L., Özer E. Triosephosphate Isomerase Deficiency: A Patient with Val231Met Mutation. *Pediatr Neurol* 2011; 44: 139–42. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2010.08.016
- Romero J.M. Triosephosphate isomerase deficiency: Effect of F240L mutation on enzyme structure. *Arch Biochem Biophys* 2020; 689: 108473. DOI: 10.1016/j.abb.2020.108473
- Roland B.P., Amrich C.G., Kammerer C.J., Stuchul K.A., Larsen S.B., Rode S., et al. Triosephosphate isomerase I170V alters catalytic site, enhances stability and induces pathology in a Drosophila model of TPI deficiency. *Biochim Biophys Acta BBA* 2015; 1852: 61–9. DOI: 10.1016/j.bbdis.2014.10.010
- Segal J., Mülleler M., Krüger A., Adler T., Scholze-Wittler M., Becker L., et al. Low catalytic activity is insufficient to induce disease pathology in triosephosphate isomerase deficiency. *J Inher Metab Dis* 2019; 42: 839–49. DOI: 10.1002/jimd.12105
- Roland B.P., Richards K.R., Hrizo S.L., Eicher S., Barile Z.J., Chang T.-C., et al. Missense variant in TPI1 (Arg189Gln) causes neurologic deficits through structural changes in the triosephosphate isomerase catalytic site and reduced enzyme levels *in vivo*. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2019; 1865: 2257–66. DOI: 10.1016/j.bbdis.2019.05.002
- Roland B.P., Zeccola A.M., Larsen S.B., Amrich C.G., Talsma A.D., Stuchul K.A., et al. Structural and Genetic Studies Demonstrate Neurologic Dysfunction in Triosephosphate Isomerase Deficiency Is Associated with Impaired Synaptic Vesicle Dynamics. *Pallanck L.J. PLoS Genet* 2016; 12: e1005941. DOI: 10.1371/journal.pgen.1005941

Diagnosis and management of myelodysplastic syndrome in a Fanconi anemia patient

Arash Alghasi¹, Homayon Yousefi¹, Reza Khedri², Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani¹

¹Thalassemia and Hemoglobinopathy Research Center, Health Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

²Clinical Research Development Unit, Golestan Hospital, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

An uncommon genetic condition known as Fanconi anemia (FA) is characterized by bone marrow failure, chromosomal instability, and a high susceptibility to cancer. We report a case study of a patient diagnosed with FA who subsequently developed myelodysplastic syndrome (MDS). Informed consent was obtained from the patient's parents/legal guardians. Consent for publication was obtained from the patient's parents/legal guardians. We present a case of a 10-year-old boy with a known diagnosis of FA who experienced a decline in platelet count and subsequent bone marrow abnormalities suggestive of MDS. Cytogenetic analysis confirmed the diagnosis of FA with multiple chromosomal breaks, and flow cytometric analysis supported the diagnosis of MDS with excess blasts. The patient underwent a stem cell transplantation from a full matched donor (his father). Stem cell transplantation from a fully matched related donor can be effective in treating FA and associated complications. The transplantation was complicated by graft-versus-host disease and cytomegalovirus infection, however the child achieved complete normalization and exhibited no signs of diarrhea or dependence on immunosuppressive drugs at the six-month follow-up. The case report emphasizes the significance of multidisciplinary care and close follow-up for pediatric FA and MDS patients, suggesting further research and standardization of diagnostic procedures.

Key words: Fanconi anemia, myelodysplastic syndrome, stem cell transplantation, graft-versus-host disease, cytogenetic analysis, flow cytometry

Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani, et al. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2024; 23 (1): 149–52. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-149-152

Fanconi anemia (FA) is an extremely uncommon type of anemia. On average, it affects 1 in every 136,000 children, varying between 1 in 100,000 and 250,000 births [1]. According to the European registries and data, the prevalence of FA is only 4–7 per million live births [2]. Guido Fanconi first characterized three brothers who had pancytopenia and birth abnormalities in 1927 [3]. The chromosome breakage test (CBT), which uses DNA cross-linking chemicals such as mitomycin C and diepoxybutane, is the gold standard for diagnosing FA and reflects increased sensitivity to bifunctional cross-linking agents. No further testing is required if a patient has a negative CBT, unless there is significant clinical suspicion [4]. Although the outcomes of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in patients with FA have significantly improved over the past 20 years, HSCT increases the risk and accelerates the development of late malignancies in addition to the increased procedure-related mortality. When carried out in optimal conditions (moderate cytopenia shifting to severe, prior to transfusion dependence and before clonal evolution or myelodysplasia/acute myeloid leukemia) [5], HSCT is associated with the best outcomes. Myelodysplastic syndromes (MDS) are a group of clonal blood disorders characterized by ineffective hematopoiesis, peripheral cytopenia, multilineage dysplasia and a variable

propensity to progress to acute myeloid leukemia. Pediatric MDS are rare and account for 4–9% of all hematologic malignancies. At present it is clear, that in children MDS is mostly associated with inherited conditions, and FA is one of the most common conditions, predisposing to the development of MDS [6].

CASE PRESENTATION

Informed consent was obtained from the patient's parents/legal guardians. Consent for publication was obtained from the patient's parents/legal guardians. A 10-year-old boy, previously diagnosed with FA, presented with a decline in platelet count and subsequent bone marrow abnormalities suggestive of MDS. This child had been under observation for the past few years, with routine hematology tests conducted every 6 months that showed no problems. However, in the most recent routine test, the platelet count dropped to 90,000/mm³. Two weeks later, the platelet count was rechecked and found to be 50,000/mm³, which further decreased to 20,000/mm³. The hemoglobin level was 11 grams per deciliter (g/dl), while other blood counts were within the normal range. Cytogenetic analysis revealed multiple chromosomal breaks consistent with the diagnosis of FA. A total of 20 metaphase spreads were studied from routine culture,

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 09.10.2023

Accepted 16.01.2024



EDN: OFDXLT

Correspondence:

Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani, Assistant Professor of Molecular Medicine, Thalassemia & Hemoglobinopathy Research Center, Health Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences
E-mail: mohamadsani495@gmail.com

100 spreads from culture were prepared with the addition of two different concentrations of mitomycin C, which were then compared with 100 spreads from an age-related normal control. The culture of the proband showed 189 breaks and 10 radials in 75 cells, yielding an average of 2.09 breaks per metaphase. In contrast, the healthy control showed 14 breaks (an average of 0.14 per metaphase) in 10 cells. From a cytogenetic standpoint, breakage equal to or greater than 10-fold that of the control is considered clinically significant. Analysis at 500–550 band resolution level revealed no chromosomal aberrations (*figure 1*). A cytogenetic analysis confirmed the diagnosis of FA with multiple breaks (*figure 2*). The patient underwent a bone marrow test, which confirmed the presence of MDS with excess blasts. A flow cytometry analysis was also conducted (the results are presented in *table*) and showed dysplastic changes in myeloid cells, supporting the diagnosis of MDS with excess blasts. The bone marrow smear showed myeloid dysplasia, with blast cells accounting for 12% of the total. Immunophenotyping of bone marrow leukocytes by flow cytometry (Attune NxT Flow Cytometer) demonstrated positive expression of CD13, CD33, CD34, CD117, CD38, and HLA-DR in 12% of the cells analyzed. These findings, together with morphological features (*figure 3*), are consistent with MDS with excess blasts (the first test). Another bone marrow smear showed myeloid dysplasia with a few blast cells. Immunophenotyping of bone marrow leukocytes by flow cytometry revealed positive expression of CD13, CD34, CD117, and CD38 in 12% of the cells (a repeat test). These results, along with the morphological findings, support the diagnosis of myeloid dysplasia with excess blasts. The child was hospitalized 28 days before stem cell transplantation (SCT) and received chemotherapy according to the mini-FLAG-Ida (fludarabine, cytarabine, granulocyte colony-stimulating factor, and idarubicin) regimen. The intensity of FLAG was reduced before SCT. The patient received stem cells from his father, a fully matched donor. After the transplantation, the child developed severe gastrointestinal graft-versus-host disease (GvHD), which lasted for two months. Treatment involved immunosuppressive medications (mycophenolate mofetil, tacrolimus, and budesonide) to manage the symptoms. Chimerism analysis performed 1 month after the transplantation showed 100% donor cells. A bone marrow test performed 2 months after the transplantation revealed complete normalization. Fortunately, two months later, the child's diarrhea decreased and completely ceased by the third month. the third month after the transplantation, the child developed cytomegalovirus infection, which was successfully treated with ganciclovir. A subsequent bone marrow test showed myeloid dysplasia with toxic

granulation. Flow cytometry immunophenotyping of the bone marrow displayed no abnormalities in the CD markers (*table*). Six months after the transplantation, the child's condition is entirely normal, with no diar-

Figure 1
G-band metaphase chromosome analysis revealed no abnormalities in the 46 XX chromosomes



Figure 2
Metaphase spread from the patient exhibiting multiple chromosomal breaks and radial formations (some of which are indicated by arrows)

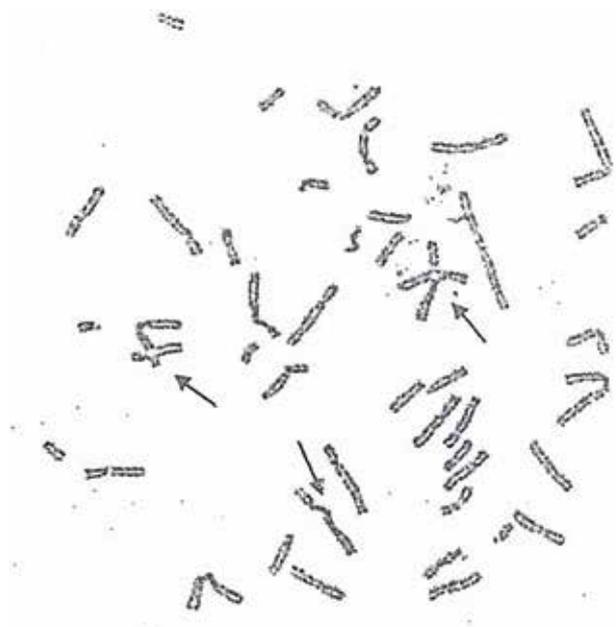
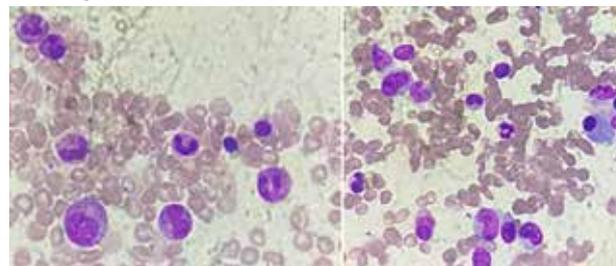


Figure 3
Cellular bone marrow aspirate smears in MDS showing dysplastic features, abnormal cellularity, increased blasts, abnormal myeloid and erythroid maturation, and the presence of ring sideroblasts. These findings raise suspicion for MDS and guide further diagnostic investigations (BMA Leishman Giemsa stain 9 1009)



rhea, and the immunosuppressive drugs have been discontinued.

DISCUSSION

This article presents a case report of a 10-year-old boy with FA who developed MDS and underwent a successful SCT from his HLA-matched father. Despite the challenges of GvHD and cytomegalovirus infection post-transplantation, the child achieved complete normalization and exhibited no signs of complications at the six-month follow-up. Patients diagnosed with FA face a significantly increased risk of various conditions, including bone marrow failure, MDS, leukemia, head and neck squamous cell carcinoma, and other types of cancer [7]. The criteria for identifying MDS in FA individuals are not well defined, and the significance of clonal chromosomal abnormalities is still uncertain. MDS diagnosis relies on comprehensive assessments that include blood smear analysis, bone marrow aspi-

rate smears and biopsies. Cytogenetic analysis can also provide valuable diagnostic information. Flow cytometry has also become useful in the study of MDS, aiding in the diagnosis and prognosis of the disease. In the majority of MDS cases, bone marrow cellularity is increased at diagnosis, often with hyperplasia of the erythroid or granulocytic series, or both [8]. However, approximately 30–40% of cases display normal bone marrow cellularity, while around 10% of patients have hypocellular bone marrow aspirates. People with MDS sometimes have non-specific reactive changes in the bone marrow, such as increased lymphocytes, plasma cells, mast cells, or hemosiderin-laden macrophages with some hemophagocytosis [9]. Patients with MDS show abnormal erythrocyte development, which is often characterized by nuclear irregularities. Neutrophils may also exhibit hypogranularity and abnormal nuclear segmentation. Dysmegakaryopoiesis, characterized by small and hypolobated megakaryocytes, is another common feature. Cytogenetic testing also provides valuable information [10]. In the mentioned case, the bone marrow aspirate and biopsy revealed increased marrow cellularity and granulocytic proliferation. Dysplastic features are typically observed in one or more myeloid cell lines in MDS. To be considered significant, the requisite percentage of cells displaying dysplasia in a specific cell line should be at least 10%. Dysplastic erythroid cell lines (caused by dyserythropoiesis), dysplastic granulocytic cell lines (caused by dysgranulopoiesis), and dysplastic megakaryocytic cell lines (caused by dysmegakaryopoiesis) are the three subtypes of dysplastic presentation in MDS [11]. The CBT, which uses DNA cross-linking agents including mitomycin C and diepoxybutane, is the gold-standard diagnostic procedure for FA. If a patient's CBT results are negative, additional testing might not be required unless there is a significant clinical suspicion [12]. Significant advancements have been made in the utilization of flow cytometry for studying MDS since the World Health Organization's 2008 classification of myeloid neoplasms was proposed [13]. Flow cytometry immunophenotyping makes it possible to find, count, and describe different types of hematopoietic cells and their stages of development in both bone marrow and peripheral blood samples. For this reason, flow cytometry plays a unique role in the diagnosis and prognosis of individuals suspected or confirmed to have MDS [14]. Even though there is a lot of evidence that flow cytometry is highly sensitive in diagnosing MDS, appropriate markers and immunophenotypic patterns still need to be confirmed in prospective studies and standardized across multiple centers. By standardizing flow cytometry in the context of MDS, it is possible to enhance the accuracy of diagnosis and improve prognostication in the future [15]. Allogeneic HSCT may be able

Table
Flow cytometric immunophenotyping of the bone marrow

Parameter	Value
The first test	
CD4	45%
CD7	41%
CD8	27%
CD10	15%
CD19	8%
CD20	10%
CD56	8%
CD38	56%
CD117	15%
CD13	36%
CD33	45%
CD64	32%
CD34	15%
HLA-DR	42%
A repeat test	
CD4	20%
CD7	18%
CD19	2%
CD38	36%
CD117	12%
CD13	79%
CD33	35%
CD64	60%
CD34	15%
HLA-DR	51%
After HSCT	
CD3	10%
CD7	11%
CD10	3%
CD19	2%
CD20	2%
CD22	2%
CD13	34%
CD33	22%
CD34	1%

to treat MDS because of the strong immune-mediated graft against tumor effects and the high-dose cytotoxic treatment used during pretransplant conditioning [16]. In a study involving 119 patients with FA, 23 participants had MDS, and the most common subtype of MDS was refractory cytopenia with multilineage dysplasia. There was a high correlation between the presence of clonal aberrations and the diagnosis of MDS. On the other hand, granulocytic dysplasia and increased blast counts were always associated with the presence of a malignant clone. Patients with FA who also have cytogenetic abnormalities, MDS, or acute leukemia have high long-term survival rates [17]. Allogeneic HSCT can be a potential treatment option for MDS, despite the possible complications. Younger patients and those who receive transplants from HLA-matched related donors and only have cytogenetic abnormalities with no excess of blast cells have the highest survival rates [18].

CONCLUSION

Regular follow-up and timely intervention are crucial for FA patients at risk of developing MDS.

Stem cell transplantation from a matched donor can be an effective treatment option, although complications such as GvHD and infections may arise. This case report highlights the importance of multidisciplinary care and close follow-up to achieve successful outcomes for pediatric patients with FA and MDS. Further research and standardization of diagnostic procedures, such as flow cytometry, can enhance the accuracy of diagnosis and prognostication for MDS in the future.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank their colleagues in Shafa hospital for their collaboration.

FUNDING

Not specified.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

ORCID

Arash Alghasi ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3482-2195>

Homayon Yousefi ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4027-2030>

Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1096-5661>

References

- Che R., Zhang J., Nepal M., Han B., Fei P. Multifaceted Fanconi Anemia Signaling. *Trends Genet* 2018; 34 (3): 171–83.
- Gulbis B., Eleftheriou A., Angastiniotis M., Ball S., Surrallés J., Castella M., et al. Epidemiology of rare anaemias in Europe. *Adv Exp Med Biol* 2010; 686: 375–96.
- Rama H., Gupta D., Chatterjee T., Gupta S. Fanconi Anemia with MDS RAEB-2 Rapidly Progressing to AML in a 5-Year-Old Boy. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2014; 30(Suppl 1): 379–82.
- Auerbach A.D. Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutat Res* 2009; 668 (1–2): 4–10.
- Dufour C., Pierri F. Modern management of Fanconi anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2022; 2022 (1): 649–57.
- Lovatel V.L., de Souza D.C., Alvarenga T.F., Capela de Matos R.R., Diniz C., Schramm M.T., et al. An uncommon t(9;11)(p24;q22) with monoallelic loss of ATM and KMT2A genes in a child with myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia who evolved from Fanconi anemia. *Mol Cytogenet* 2018; 11: 40.
- Savage S.A., Walsh M.F. Myelodysplastic Syndrome, Acute Myeloid Leukemia, and Cancer Surveillance in Fanconi Anemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2018; 32 (4): 657–68.
- Gupta G., Singh R., Kotasthane D.S., Kotasthane V.D. Myelodysplastic syndromes/neoplasms: recent classification system based on World Health Organization Classification of Tumors - International Agency for Research on Cancer for Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *J Blood Med* 2010; 1: 171–82.
- Zini G. Diagnostics and Prognostication of Myelodysplastic Syndromes. *Ann Lab Med* 2017; 37 (6): 465–74.
- Invernizzi R., Quaglia F., Porta M.G. Importance of classical morphology in the diagnosis of myelodysplastic syndrome. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2015; 7 (1): e2015035.
- Hall J., Foucar K. Diagnosing myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms: laboratory testing strategies to exclude other disorders. *Int J Lab Hematol* 2010; 32 (6 Pt 2): 559–71.
- Auerbach A.D. Diagnosis of Fanconi anemia by diepoxybutane analysis. *Curr Protoc Hum Genet* 2015; 85: 8.7.1–8.7.17.
- van de Loosdrecht A.A., Kern W., Porwit A., Valent P., Kordasti S., Cremers E., et al. Clinical application of flow cytometry in patients with unexplained cytopenia and suspected myelodysplastic syndrome: A report of the European LeukemiaNet International MDS-Flow Cytometry Working Group. *Cytometry B Clin Cytom* 2023; 104 (1): 77–86.
- van der Velden V.H.J., Preijers F., Johansson U., Westers T.M., Dunlop A., Porwit A., et al. Flow cytometric analysis of myelodysplasia: Pre-analytical and technical issues-Recommendations from the European LeukemiaNet. *Cytometry B Clin Cytom* 2023; 104 (1): 15–26.
- van de Loosdrecht A.A., Alhan C., Béné M.C., Della Porta M.G., Dräger A.M., Feuillard J., et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2009; 94 (8): 1124–34.
- Saber W., Horowitz M.M. Transplantation for myelodysplastic syndromes: who, when, and which conditioning regimens. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2016; 2016 (1): 478–84.
- Cioc A.M., Wagner J.E., MacMillan M.L., DeFor T., Hirsch B. Diagnosis of myelodysplastic syndrome among a cohort of 119 patients with fanconi anemia: morphologic and cytogenetic characteristics. *Am J Clin Pathol* 2010; 133 (1): 92–100.
- Ayas M., Saber W., Davies S.M., Harris R.E., Hale G.A., Socie G., et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for fanconi anemia in patients with pretransplantation cytogenetic abnormalities, myelodysplastic syndrome, or acute leukemia. *J Clin Oncol* 2013; 31 (13): 1669–76.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-153-158

Случай массивного кровотечения из артериоинтестинальной фистулы у ребенка с острым миелоидным лейкозом

С.С. Гусев¹, Г.И. Гиро^{1,2}, В.В. Громова¹, К.С. Антонова¹, Г.С. Рабаев¹, Д.Г. Ахаладзе¹, А.Ю. Иванашкин¹, И.Г. Хамин^{1,2}

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

²ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Дети с онкогематологическими и иммунологическими заболеваниями подвержены высокому риску развития осложнений, среди которых кровотечения различных локализаций. Отдельное место занимают желудочно-кишечные кровотечения, в том числе редкие с большими объемами и темпами кровопотери, что существенно повышает общую летальность. В данной статье представлен клинический случай массивного желудочно-кишечного кровотечения из артериоинтестинальной фистулы у пациентки с острым миелоидным лейкозом, описаны диагностический поиск источника кровотечения, а также методика его ликвидации. Кроме того, продемонстрированы графические изображения, приведены результаты лабораторно-инструментальных исследований, а также указаны предпосылки, ставшие причиной развития данного кровотечения. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, тромбоцитопения, артериоинтестинальная фистула, желудочно-кишечное кровотечение, геморрагический шок

Гусев С.С. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 153–8.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-153-158

A case report of massive bleeding from an arterio-intestinal fistula in a child with acute myeloid leukemia

S.S. Gusev¹, G.I. Giro^{1,2}, V.V. Gromova¹, C.S. Antonova¹, G.S. Rabaev¹, D.G. Akhaladze¹, A.Yu. Ivanashkin¹, I.G. Khamin^{1,2}

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

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Children with oncohematological and immunological diseases are at high risk of developing complications, one of which is bleeding at various sites. Special mention needs to be made regarding gastrointestinal bleedings, including rare ones, with large volumes and high rates of blood loss, which significantly increases the overall mortality. This article presents a clinical case of massive GI bleeding from an arterio-intestinal fistula in a patient with AML. We describe clinical search for the source of bleeding, as well as the methods for its elimination. Also, we provide graphic images and descriptions of laboratory and instrumental examinations. The patient's parents gave consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: acute myeloid leukemia, thrombocytopenia, arterio-intestinal fistula, gastrointestinal bleeding, hemorrhagic shock

Gusev S.S., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 153–8.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-153-158

Несмотря на все успехи, достигнутые в терапии детей с онкогематологическими заболеваниями, на любом этапе лечения, основой которого является интенсивная химиотерапия, могут развиться жизнеугрожающие осложнения, основными из которых являются тяжелые грибковые и бактериальные инфекции. При этом кровотечения, которые на заре эры химиотерапии также занимали существенное место в структуре летальности, сегодня крайне редко являются причиной смертельного исхода. Тем не менее геморрагические осложнения развиваются у многих пациентов с гемобластомами

и синдромами костномозговой недостаточности и у части из них представляют собой трудноразрешимую клиническую проблему вследствие сложностей выявления источника кровотечения, высокой интенсивности кровопотери и быстротой развития геморрагического шока [1]. В 25–62% случаев как минимум одним из источников кровотечения являются различные отделы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [2–4].

Основными причинами желудочно-кишечных кровотечений (ЖКК) у детей с онкогематологическими заболеваниями являются тромбоцитопения [5, 6],

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 29.10.2023

Принята к печати 16.01.2024



EDN: OGSEPY

Контактная информация:

Хамин Игорь Геннадьевич, канд. мед. наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии №1 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: igorhamin@yandex.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 29.10.2023

Accepted 16.01.2024

Correspondence:

Igor G. Khamin, Cand. Med. Sci., Head of Intensive Care Unit No. 1 of 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: igorhamin@yandex.ru

токсическое воздействие цитостатических препаратов, приводящих к язвенным дефектам слизистой оболочки кишечника, инфекции, вызываемые грибковой флорой, а также непосредственное опухолевое (чаще лимфомное) поражение ЖКТ различной локализации [7]. Артериоинтестинальные фистулы у детей развиваются крайне редко и чреваты большими объемами моментальной кровопотери и высокой летальностью [8, 9].

В данной статье приводим описание клинического случая течения аппендицита, оперативное разрешение которого было невозможно ввиду формирования аппендикулярного инфильтрата [10], ставшего причиной развития массивной кровопотери из-за образования артериоинтестинальной фистулы, вызванной инвазивным микозом. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Девочка А., 10 лет, в декабре 2016 г. был установлен диагноз: идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, острое течение, криз средней тяжести. После проведенного лечения по месту жительства пациентка была выписана из стационара с частичным гематологическим ответом в удовлетворительном состоянии.

11 ноября 2021 г. ребенок госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в связи с повторным развитием нейтропении (до $0,5 \times 10^9/\text{л}$) и тромбоцитопении (до $62 \times 10^9/\text{л}$). После проведения комплекса исследований был установлен диагноз: острый миелоидный лейкоз, вариант М-2, промежуточная группа риска. Начата специфическая терапия индукции цитарабином $100 \text{ мг}/\text{м}^2 \times 14$ доз каждые 12 ч, митоксантроном $14 \text{ мг}/\text{м}^2$, дни 1–3, эпопозидом $100 \text{ мг}/\text{м}^2$, дни 4–6.

Через 10 дней после окончания курса индукции на фоне аплазии кроветворения у пациентки появились жалобы на боли в животе и подъем температуры тела до $38,9^\circ\text{C}$ без гемодинамических нарушений. Appetit отсутствовал. Живот был мягкий, доступный пальпации во всех отделах. Отмечалась выраженная болезненность в правой подвздошной области в проекции слепого и восходящего отделов толстой кишки. Лабораторно отмечалось повышение уровня С-реактивного белка до $117 \text{ мг}/\text{мл}$. По данным ультразвукового исследования (УЗИ) органов брюшной полости обнаружены признаки внутрибрюшной лимфаденопатии. Аппендикулярный отросток визуализировать не удалось. Проведена консультация хирурга, данных за острую хирургическую патологию не выявлено. Состояние было расце-

нено как течение тифлита. Начата консервативная терапия.

В течение следующих 3 сут на фоне фебрильной температуры наблюдалось усиление болевого синдрома, повышение уровня С-реактивного белка до $212,8 \text{ мг}/\text{мл}$ при сохранении индуцированной аплазии кроветворения.

29 ноября 2021 г. (на 11-е сутки от окончания индукции АМ42Е согласно протоколу ОМЛ-MRD-2018) по данным УЗИ органов брюшной полости был обнаружен аппендикулярный инфильтрат, состоящий из фрагмента слепой кишки, аперистальтических петель подвздошной кишки и участка большого сальника, расположенных вокруг отростка. Стенки фрагментов толстого кишечника, тонкого кишечника и отростка, образующих инфильтрат, были утолщены, кровоток в них усилен. Дифференцировка стенок на слои была нарушена. Инфильтрат интимно прилежал к правым подвздошным сосудам на уровне бифуркации общей подвздошной артерии и к правому мочеточнику. Также отмечено появление в полости малого таза небольшого количества свободной жидкости объемом до 60 мл (рисунки 1). Нахождение аппендикулярного инфильтрата в непосредственной близости к правому мочеточнику привело к нарушению уродинамики в правой почке, что стало причиной расширения чашечно-лоханочной системы (ЧЛС) до 12,1 мм и формирования гидронефроза II степени (рисунки 2).

Выполненная мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) органов брюшной полости подтвердила наличие аппендикулярного инфильтрата с ретроцекальным и ретроперитонеальным расположением аппендикулярного отростка (рисунки 3).

На основании клинической картины, данных лабораторных и инструментальных методов исследования было установлено осложнение основного заболевания на фоне индуцированной аплазии кроветворения: тифлит. Вторичный аппендицит, осложненный аппендикулярным инфильтратом. Было принято решение о продолжении консервативной терапии.

В дальнейшем у пациентки усилился болевой синдром в правой подвздошной, надлобковой и околопупочной областях. Перистальтика не выслушивалась. Отмечались признаки динамической кишечной непроходимости (задержка стула, вздутие живота). Для исключения перфорации полого органа, оценки состояния кишечника и плотности аппендикулярного инфильтрата 03 декабря 2021 г. (на 15-е сутки от окончания химиотерапии) выполнена диагностическая лапароскопия. При визуальном осмотре органов брюшной полости выявлено паретическое расширение петель кишечника, наличие небольшого количества свободной прозрачной жидкости в полости малого таза. Аппендикулярный инфильтрат плотной консистенции с вовлечением купола слепой

и дистальной части подвздошной кишки. Перфорация полого органа исключена. Принято решение о продолжении консервативного лечения.

В течение декабря 2021 г. на фоне относительно стабильной клинической картины по данным УЗИ отмечается отрицательная динамика в виде дальнейшего расширения ЧЛС правой почки с расширением мочеточника справа на фоне сдавления последнего инфильтратом (рисунки 4). Кроме того, по данным серии МСКТ, выполненных с интервалом 14 сут, обращала на себя внимание прогрессия сужения участка правой внутренней подвздошной артерии, прилежащей к аппендикулярному инфильтрату (рисунки 5). Продолжены консервативная терапия и динамическое наблюдение.

27 декабря 2021 г. (на 39-е сутки от окончания индукции AM42E согласно протоколу ОМП-MRD-2018) по данным проведенной костномозговой пункции констатирована первая клинико-гематологическая ремиссия. В гемограмме отмечается изолированная

тромбоцитопения, остальные ростки кроветворения функционируют. Несмотря на фебрилитет, самочувствие оставалось удовлетворительным. Пациентка была активна. Появился аппетит. Отмечалось разрешение абдоминального болевого синдрома, обезболивание наркотическими анальгетиками полностью отменено.

1 января 2022 г., спустя полтора месяца с момента появления первых признаков абдоминального болевого синдрома, на фоне полного благополучия ребенок пожаловался на резкую боль в правой подвздошной области, после чего потерял сознание. Прибывшая на место реанимационная бригада зафиксировала агональное состояние. При первичном осмотре констатирована кома с оценкой уровня сознания 3 балла по шкале Глазго. Широкие зрачки, слабая фотореакция. Кожные покровы бледные с восковидным оттенком и выраженным нарушением микроциркуляции. Дыхание агональное. Нитевидный пульс на магистральных сосудах.

Рисунок 1

УЗИ кишечника пациентки А. Сканирование правой подвздошной области: 1 – червеобразный отросток; 2 – область инфильтрата; 3 – сальник

Figure 1
Bowel ultrasound (US) of patient A. A scan of the right iliac region: 1 – appendix; 2 – area of the infiltrate; 3 – omentum



Рисунок 2

УЗИ правой почки пациентки А.: расширение ЧЛС правой почки до 12,1 мм

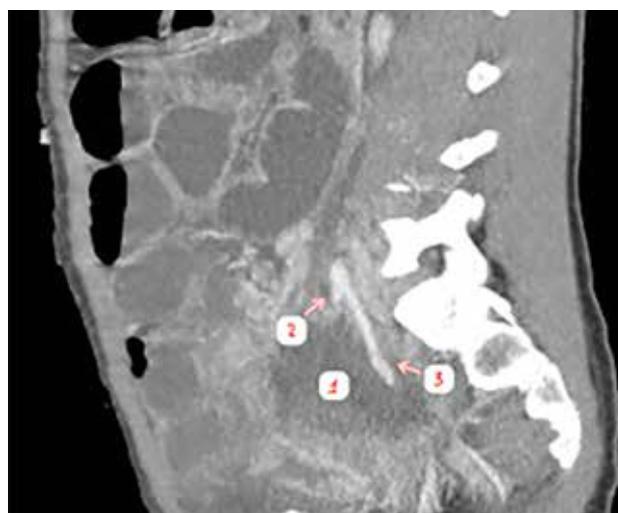
Figure 2
US of the right kidney of patient A.: the dilation of the pelvicalyceal system of the right kidney up to 12.1 mm



Рисунок 3

МСКТ органов брюшной полости пациентки А.: 1 – инфильтрат; 2 – правая наружная подвздошная артерия; 3 – правая внутренняя подвздошная артерия

Figure 3
Multislice computed tomography (MSCT) of the abdominal cavity organs of patient A.: 1 – infiltrate; 2 – right external iliac artery; 3 – right internal iliac artery



Аускультативно тоны сердца практически не выслушивались, отмечалась выраженная брадикардия с частотой сердечных сокращений 40–50 уд/мин. Были начаты реанимационные мероприятия. Немедленно проведена интубация трахеи. Начаты искусственная вентиляция легких мешком Амбу и непрямой массаж сердца. Внутривенно введен эпинефрин, начата инфузия кристаллоидных растворов.

Через 40 мин реанимационных мероприятий удалось добиться относительной стабилизации состояния, после чего ребенок был транспортирован в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ).

В ходе транспортировки в ОРИТ было отмечено интенсивное поступление алой крови из прямой кишки. По данным анализа венозной крови отмечается снижение гемоглобина (74 г/л), pH (7,02) и

увеличение сывороточного лактата (12,2 ммоль/л) (рисунки 6). Спустя 10 мин после перевода в ОРИТ отмечено быстрое нарастание объема живота с контурированием на передней брюшной стенке петель кишечника. Из пищевода, носовых ходов, а также по назогастральному зонду начинает поступать большое количество пульсирующей алой крови. Ввиду невозможности полностью исключить артериальное кровотечение из пищевода, желудка (эрозии, язвы, сосудистые фистулы) и носовых ходов, проведены постановка зонда Блэкмора и задняя тампонада носовых ходов. По данным УЗИ свободной жидкости в брюшной полости не обнаружено. В целях определения источника кровотечения и возможного его устранения проведены диагностическая фиброгастроудодено- и колоноскопия. Ввиду постоянного интенсивного притока свежей крови попытки

Рисунок 4

УЗИ правой почки и подвздошной области справа пациентки А. Расширение ЧЛС правой почки до 15,6 мм: 1 – расширенный правый мочеточник; 2 – область подвздошных сосудов; 3 – область инфильтрата

Figure 4

US of the right kidney and the iliac region on the right of patient A. The pelvicalyceal system of the right kidney is dilated up to 15.6 mm: 1 – a dilated right ureter; 2 – region of the iliac vessels; 3 – area of the infiltrate

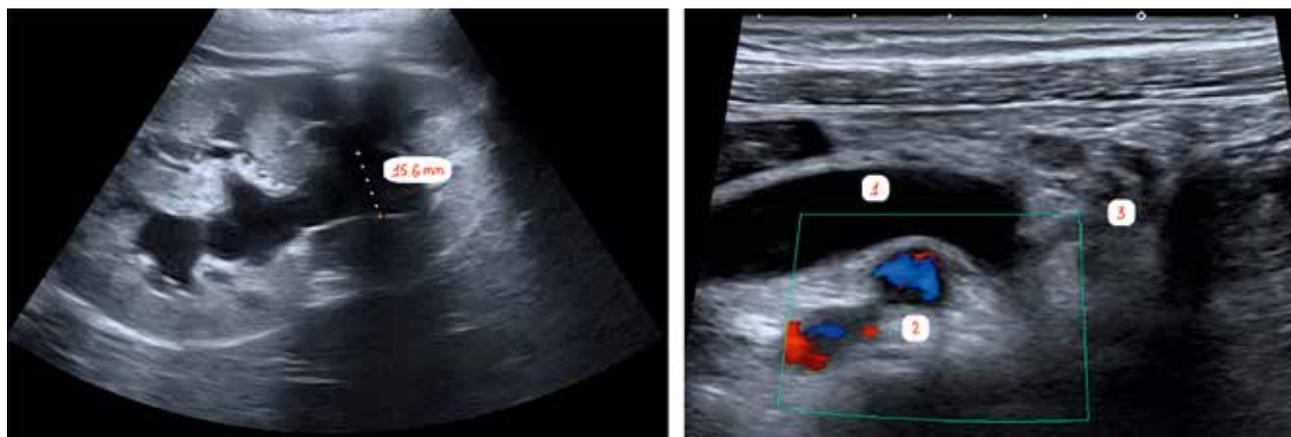
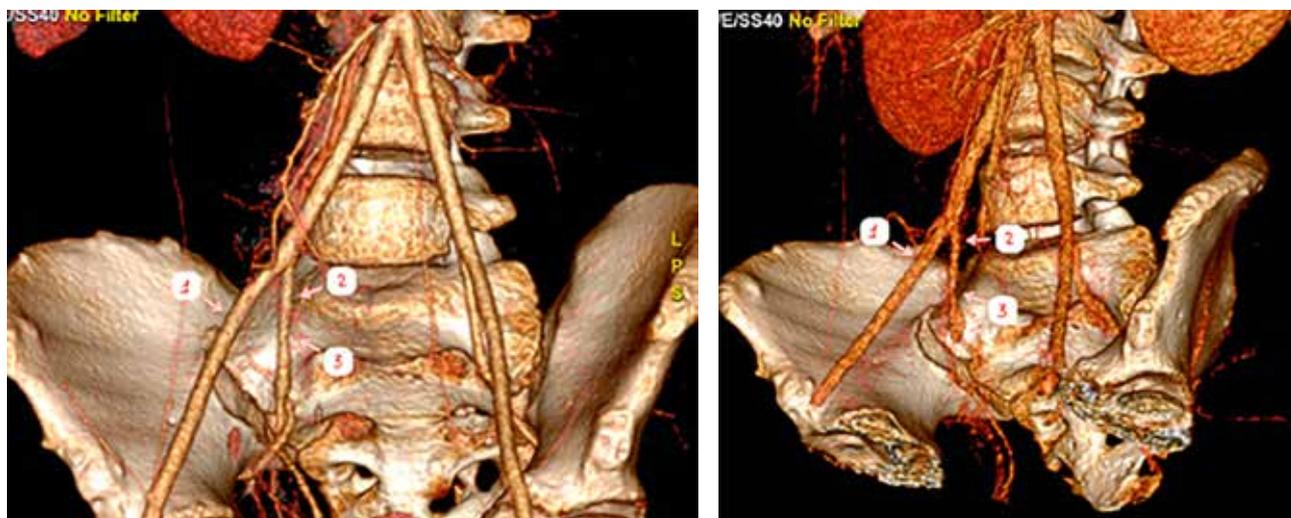


Рисунок 5

МСКТ-ангиография подвздошных сосудов пациентки А., выполненная с интервалом 14 сут: 1 – правая наружная подвздошная артерия; 2 – правая внутренняя подвздошная артерия; 3 – место сдавливания

Figure 5

MSCT angiography of the iliac vessels of patient A., performed with a 14-day interval: 1 – right external iliac artery; 2 – right internal iliac artery; 3 – site of compression



обнаружить источник кровотечения не увенчались успехом.

Учитывая анамнестические данные о наличии у пациентки аппендикулярного инфильтрата, клинической картины геморрагического шока и результатов инструментальных исследований было предположено наличие артериальной фистулы в области аппендикулярного инфильтрата как основного источника кровотечения. По жизненным показаниям ребенок был переведен в операционный блок для проведения экстренной лапаротомии. При ревизии брюшной полости в правой подвздошной области выявлена прикрытая перфорация терминального отдела тонкой кишки и илеоцекального угла с вовлечением в спаечный конгломерат правой внутренней подвздошной артерии. Из эрозивного дефекта артерии наблюдалось массивное кровотечение в просвет кишки. В целях остановки кровотечения выполнено прошивание внутренней подвздошной артерии. Проведена резекция илеоцекального угла, терминального отдела тонкой кишки и части толстой кишки с наложением тонко-толстокишечного анастомоза «бок-в-бок». Через просвет тонкой кишки выполнена эндоскопическая интестиноскопия, других источников кровотечения не обнаружено.

Через 12 ч после проведенного оперативного вмешательства на фоне развившегося синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови у пациентки возобновилось массивное кровотечение по абдоминальным дренажам. Принято решение о повторном неотложном опера-

тивном вмешательстве в объеме релапаротомии, ревизии брюшной полости. Обнаружено, что источником кровотечения являлась бифуркация общей подвздошной артерии, в связи с чем выполнено лигирование внутренней подвздошной артерии. Кровотечение остановлено. Состояние ребенка удалось стабилизировать.

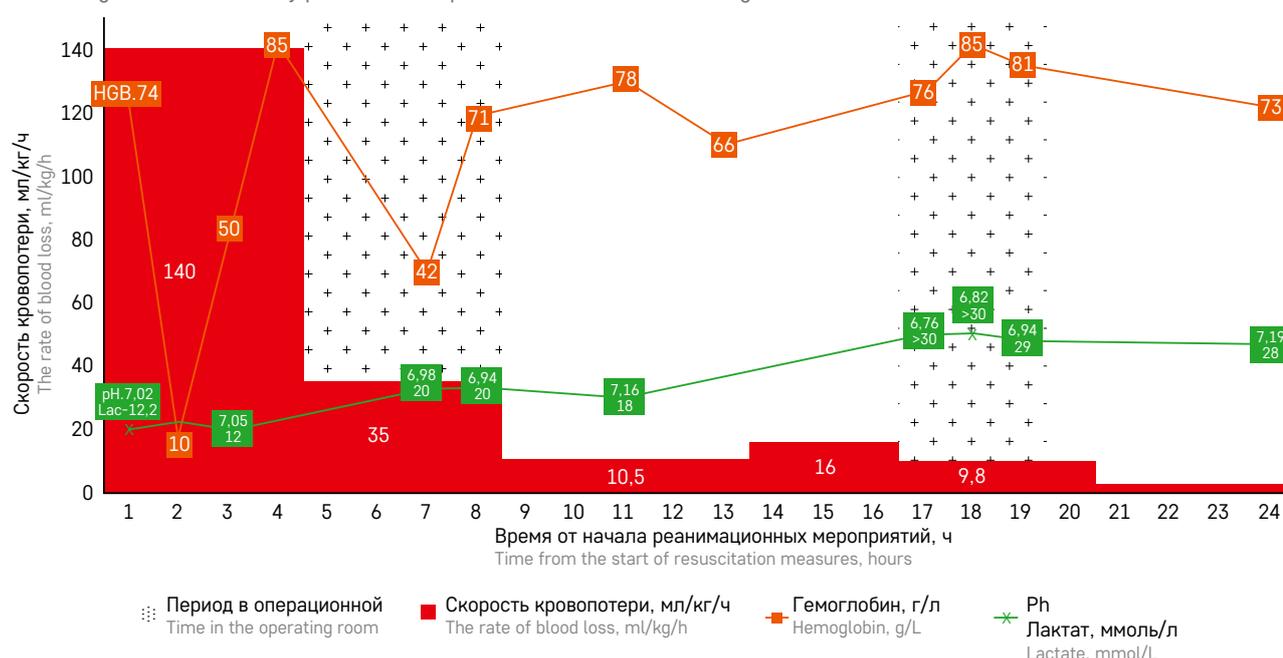
В целом в течение 24 ч с момента развития неотложного состояния общий объем кровопотери составил примерно 27 л (12 расчетных объемов циркулирующей крови у данной пациентки).

Перенесенный геморрагический шок вызвал развитие синдрома полиорганной недостаточности: неврологического дефицита на фоне развившегося острого нарушения мозгового кровообращения, острой сердечно-сосудистой недостаточности, трансфузионно-ассоциированного повреждения легких, синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови и острого почечного повреждения. Все вышеперечисленное обусловило дальнейший летальный исход спустя 3 нед пребывания пациентки в ОРИТ.

После смерти пациентки было проведено молекулярно-генетическое исследование тканей инфильтрата методом секвенирования генома, в результате которого был идентифицирован возбудитель – *Aspergillus pseudoglaucus*. Ретроспективно установлено, что инвазивная грибковая инфекция стала причиной развития тифлита и вторичного аппендицита с аппендикулярным инфильтратом и последующего изъязвления внутренней подвздошной артерии в просвет ЖКТ.

Рисунок 6
Динамика лабораторных показателей венозной крови пациентки А. в первые 24 ч от начала реанимационных мероприятий

Figure 6
The changes in the laboratory parameters of patient A's venous blood during first 24 hours after the start of resuscitation measures



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанный случай ЖКК из артерио-интестинальной фистулы у пациентки с острым миелоидным лейкозом является эксклюзивно редкой и сложно диагностируемой причиной массивной кровопотери. Интенсивное поступление алой и пульсирующей крови одновременно из верхних и нижних отделов ЖКТ, отсутствие свободной жидкости в брюшной полости, невозможность провести дополнительную диагностику для поиска источника кровотечения объективно затрудняют постановку диагноза, а драматическая массивность кровопотери практически не оставляет шансов на благоприятный исход.

В данном клиническом примере проведение эндоскопических методов исследования оказалось неэффективным, так как интенсивность кровопотери не позволяла провести полноценную визуализацию и установить источник кровоте-

чения. Только лишь экстренное хирургическое вмешательство с проведением всего комплекса интенсивной терапии непосредственно в операционной позволило остановить кровотечение и добиться временной стабилизации состояния пациентки.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Gusev S.S. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-8995-528X>

Giro G.I. ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-8384-3014>

Gromova V.V. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1808-6179>

Antonova C.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6001-2746>

Rabaev G.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5691-2522>

Akhaladze D.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1387-209X>

Ivanashkin A.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4348-4573>

Khamin I.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8264-2258>

Литература

- DeSancho M.T., Rand J.H. Bleeding and thrombotic complications in critically ill patients with cancer. *Crit Care Clin* 2001; 17 (3): 599–622.
- Cartoni C., Niscola P., Breccia M., Brunetti G., D'Elia G.M., Giovannini M., et al. Hemorrhagic complications in patients with advanced hematological malignancies followed at home: an Italian experience. *Leuk Lymphoma* 2009; 50 (3): 387–91.
- Stalfelt A.M., Brodin H., Pettersson S., Eklöf A. The final phase in acute myeloid leukaemia (AML). A study on bleeding, infection and pain. *Leuk Res* 2003; 27 (6): 481–8.
- Brenner B., Hoffman R., Balashov D., Shutluko E., Culić S.D., Nizamoutdinova E. Control of bleeding caused by thrombocytopenia associated with hematologic malignancy: an audit of the clinical use of recombinant activated factor VII. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005; 11 (4): 401–10.
- Larsen J.B., Hojbjerg J.A., Hvas A.M. The Role of Platelets in Cancer-Related Bleeding Risk: A Systematic Review. *Semin Thromb Hemost* 2020; 46 (3): 328–41.
- Johnstone C., Rich S.E. Bleeding in cancer patients and its treatment: a review. *Ann Palliat Med* 2018; 7 (2): 265–73.
- Yarris J.P., Warden C.R. Gastrointestinal Bleeding in the Cancer Patient. *Emerg Med Clin North Am* 2009; 27 (3): 363–79.
- Awadie H., Zoabi A., Gralnek I.M. Obscure-overt gastrointestinal bleeding: a review. *Pol Arch Intern Med* 2022; 132 (5): 16253.
- Hai P.D., Nhi P.Y., Huyen N.T., Thanh N.H. A case report of primary aortoduodenal fistula: A forgotten cause of gastrointestinal bleeding. *Radiol Case Rep* 2023; 18 (4): 1556–9.
- Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению острого аппендицита. [Электронный ресурс] URL: <https://clck.ru/33ZNW3> (дата обращения 16.03.2023). [National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of acute appendicitis. [Electronic resource] URL: <https://clck.ru/33ZNW3> (access date 16.03.2023) (In Russ.)].

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-159-164

Терапия ингибиторами иммунных контрольных точек детей и подростков с рефрактерной/рецидивирующей лимфомой Ходжкина: серия клинических наблюдений

Е.А. Тузова, Д.А. Евстратов, А.В. Пшонкин, М.Н. Корсантия, И.В. Фисюн, Д.В. Литвинов, Н.В. Мякова

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

Десятилетняя выживаемость без прогрессирования у детей, подростков и молодых взрослых с рефрактерным и рецидивирующим течением лимфомы Ходжкина (р/р ЛХ) не превышает 50%. Brentuximab vedotin (БВ) и ингибиторы иммунных контрольных точек (ИИКТ), такие как ниволумаб и пембролизумаб, эффективно применяются у взрослых пациентов с р/р ЛХ. В данной работе мы проанализировали опыт применения ИИКТ у детей и подростков с р/р ЛХ. Исследование носило ретроспективный характер, включало пациентов с р/р ЛХ младше 18 лет ($n = 20$), которые получали терапию ИИКТ. Все пациенты получали терапию БВ, в 35% ($n = 7$) случаев проводилась аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Среди всех пациентов 45% ($n = 9$) получали ИИКТ в первом рефрактерном рецидиве, 40% ($n = 8$) – из-за рефрактерной прогрессии заболевания, 15% ($n = 3$) – в терапии второго рецидива. Два пациента получали ИИКТ в комбинации с другими препаратами, в 2 случаях ответ на терапию был неизвестен. Девять (56%) из 16 пациентов достигли метаболического ответа, в 1 случае по результатам проведенной биопсии очага, положительного по данным позитронно-эмиссионной томографии, опухолевое поражение не выявлено, таким образом, ответ был достигнут у 10 (63%) пациентов. В анализ выживаемости вошли 20 человек. Медиана времени наблюдения от начала терапии ИИКТ составила 1,2 года (межквартильный размах: 0,7–1,5 года). Вероятность общей выживаемости через 1 год составила 69% (95% доверительный интервал (ДИ) 46,4–91,6), через 2 года – 60,4% (95% ДИ 35,1–85,7), через 3 года – 40,3% (95% ДИ 4–76,6). Данное исследование демонстрирует, что ИИКТ являются эффективным элементом лечения у детей и подростков с р/р ЛХ, которые не ответили на предыдущие линии терапии, включая БВ. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: рецидивирующее/рефрактерное течение лимфомы Ходжкина, дети, подростки, ингибиторы иммунных контрольных точек, ниволумаб, пембролизумаб

Тузова Е.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 159–64.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-159-164

Immune checkpoint inhibitor therapy in children and adolescents with refractory/relapsed Hodgkin lymphoma: a case series

E.A. Tuzova, D.A. Evstratov, A.V. Pshonkin, M.N. Korsantiya, I.V. Fisyun, D.V. Litvinov, N.V. Myakova

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

Ten-year progression-free survival in children, adolescents and young adults with relapsed/refractory Hodgkin lymphoma (r/r HL) does not exceed 50%. Brentuximab vedotin (BV) and immune checkpoint inhibitors (ICIs), such as nivolumab and pembrolizumab, are successfully used for the treatment of adults with r/r HL. In this study, we analyzed our experience of ICI treatment of children and adolescents with r/r HL. This study was retrospective and included patients with r/r HL under 18 years of age, who received ICI therapy. Twenty patients were included. All of them had been treated with BV, 35% ($n = 7$) of patients had undergone auto-HSCT before treatment with ICIs. Among all patients, 45% ($n = 9$) received ICIs for the first refractory relapse, 40% ($n = 8$) due to refractory disease progression and 15% ($n = 3$) received therapy for the second relapse. Two patients received ICIs in combination with other drugs, the response to therapy in 2 patients was unknown. Nine (56%) of 16 patients achieved a metabolic response, one patient had no evidence of vital tumor cells based on the results of a biopsy of a lesion positive on positron emission tomography, thus a response was achieved in 10 (63%) patients. The survival rate analysis included 20 patients. Median follow-up from ICIs initiation was 1.2 years (interquartile range: 0.7–1.5 years). The probability of 1-year overall survival (OS) rate reaches 69% (95% confidence interval (CI) 46.4–91.6), 2-year OS – 60.4% (95% CI 35.1–85.7), 3-year OS – 40.3% (95% CI 4–76.6). In this study, we demonstrated the effectiveness of the treatment with ICIs as an element of therapy in children and adolescents with r/r HL, who had not responded to previous lines of therapy, including BV. The patients' parents gave consent to the use of their children's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: relapsed/refractory Hodgkin lymphoma, children, adolescents, immune checkpoint inhibitors, nivolumab, pembrolizumab

Tuzova E.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 159–64.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-159-164

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 21.02.2024
Принята к печати 15.03.2024



EDN: PJPJRA

Контактная информация:

Тузова Елизавета Александровна, врач-гематолог боксированного отделения гематологии/онкологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: tuzovaelizaveta97@gmail.com

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 21.02.2024
Accepted 15.03.2024

Correspondence:

Elizaveta A. Tuzova, a hematologist at the Hematology/Oncology Isolation Unit of 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., 117997, Moscow, Russia
E-mail: tuzovaelizaveta97@gmail.com

Классическая лимфома Ходжкина (ЛХ) является одной из наиболее частых лимфом у детей и подростков [1]. Химиотерапия (ХТ) и лучевая терапия (ЛТ) приводят к 5-летней бессобытийной выживаемости в 89% случаев [2, 3]. Тем не менее среди детей, подростков и молодых взрослых, у которых отмечается рефрактерное или рецидивирующее течение ЛХ (р/р ЛХ), 10-летняя выживаемость без прогрессирования (ВБП) составляет всего 47% [4].

Одним из вариантов «терапии спасения» является брентуксимаб ведотин (БВ). Этот препарат представляет собой конъюгат антитела и лекарственного средства, активный против CD30-позитивных клеток, таких как клетки Рид–Штернберга, и доставляет агент монометилауристатин Е, воздействующий на микротрубочки веретена деления, внутрь клеток Рид–Штернберга, индуцируя апоптоз [5]. Исследования применения БВ в монорежиме в качестве терапии второй и третьей линий среди взрослых показали частоту полного ответа от 27 до 43%, тогда как последовательное применение ХТ и БВ или их сочетание приводят к частоте полного ответа от 69 до 83% [6]. В крупном исследовании Massano и соавт., проведенном на детской популяции ($n = 68$), также была продемонстрирована высокая эффективность применения БВ [7]. В этом исследовании БВ в монорежиме использовался у 31 пациента, в том числе у 12 в качестве консолидирующей терапии после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). У 18 пациентов до ТГСК и у 15 больных до и после ТГСК общая выживаемость (ОВ) составила 75%, 3-летняя ВБП – 58%, общий ответ (ОО) наблюдался в 66% случаев [7].

Другим подходом к терапии р/р ЛХ является применение ингибиторов иммунных контрольных точек (иИКТ), направленных на ось PD-1 и PD-2 (белки запрограммированной гибели клеток 1 и 2), которые продемонстрировали свою эффективность, обусловленную в том числе биологией опухоли. Патологические клетки Рид–Штернберга, как правило, имеют мутации в хромосоме 9p24.1, приводящие к повышенной экспрессии PD-L1 и PD-L2, что делает ЛХ генетически восприимчивой к блокаде контрольных точек [8]. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration) одобрило 2 антитела против PD-1 для лечения р/р ЛХ: ниволумаб и пембролизумаб, которые обеспечивают долгосрочную эффективность терапии у взрослых и детей [8, 9]. Подобно опыту применения у взрослых, иИКТ приводили к объективному ответу от 30 до 60% у педиатрических пациентов с р/р ЛХ [8].

иИКТ хорошо переносятся детьми в дозах, эквивалентных одобренным для взрослых: пембролизумаб

2 мг/кг каждые 3 нед и ниволумаб 3 мг/кг каждые 2 нед [10, 11]. Побочные эффекты были аналогичны тем, которые наблюдались у взрослых, за исключением часто встречающейся цитопении (включая III–IV степени), что, возможно, говорит о большом объеме предшествующей терапии у детей. Наиболее распространенными побочными эффектами терапии были утомляемость и лихорадка, а также печеночная токсичность (повышение активности трансаминаз, I–II степень). Менее распространенными, однако значимыми побочными эффектами, касающимися иммунной системы, являлись панкреатит, тиреоидит, плевральный и перикардиальный выпоты, колит [10, 11].

В исследовании Kozlov и соавт. сосредоточено наибольшее число пациентов детского возраста, получивших ниволумаб в монорежиме при терапии р/р ЛХ ($n = 13$) со следующими результатами: ОО – 92% ($n = 12$), полный ответ (ПО) – 62% ($n = 8$), частичный ответ (ЧО) – 30% ($n = 4$), стабилизация заболевания (СЗ) – 8% ($n = 1$). Трехлетняя ОВ и ВБП составили 95% и 90% соответственно [12]. Исследование K.L. Davis и соавт. включало 10 пациентов, ПО достигли 10% ($n = 1$), ЧО – 20% ($n = 2$), СЗ зафиксирована у 60% ($n = 6$) [11].

Наибольшее число педиатрических пациентов, у которых применялся пембролизумаб в монорежиме, сосредоточено в исследовании KEYNOTE051 ($n = 15$). ПО достигли 13% ($n = 2$), ЧО – 47% ($n = 7$), СЗ наблюдалась у 20% ($n = 3$). Однолетняя ОВ и ВБП составили 100% и 51,9% соответственно [10].

В данной статье мы проанализировали опыт применения иИКТ (ниволумаб и пембролизумаб) у пациентов с р/р ЛХ в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены 20 пациентов младше 18 лет с р/р ЛХ, не достигшие ответа на предшествующие линии лечения, включая использование БВ, которым была проведена терапия иИКТ. Все пациенты получали терапию в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России с 15.06.2016 по 31.05.2023. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

Сбор материала проводился в медицинской информационной системе и среди пациентов, получавших телемедицинскую консультацию.

Основными хронологическими точками являлись:

- 1) дата начала терапии первой линии;
- 2) дата начала терапии иИКТ;
- 3) дата последнего наблюдения;
- 4) дата смерти.

Период наблюдения для ОВ отсчитывался от 1-го дня терапии иИКТ, дата окончания – последний визит, смерть.

Оценка метаболического ответа проводилась по шкале Deauville (Deauville score, DS). За негативный ответ по данным позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) принимались значения DS 1–3 балла, за ПЭТ-позитивный – значения DS 4–5 баллов.

Для анализа результатов была создана электронная научная база данных. Для формирования базы данных использовалось программное обеспечение Microsoft Excel 2020. Для проведения анализа применялось программное обеспечение XLSTAT 2020 (Addinsoft, Франция). Для подсчета ОВ использовался метод Каплана–Майера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди 20 пациентов, включенных в исследование, мальчиков было 14 (70%). Средний возраст начала терапии первой линии составил $13,4 \pm 2,7$ года. Характеристика пациентов, проводимой терапии и ответа на нее представлена в *таблице*. Инициально у 50% ($n = 10$) пациентов определялась IV стадия заболевания, у 35% ($n = 7$) – II стадия и у 15% ($n = 3$) – III стадия. В 65% ($n = 13$) случаев имелись В-симптомы, в 25% ($n = 5$) – экстранодальное поражение (Е-стадия).

В качестве интенсивной терапии второй линии у 70% ($n = 14$) пациентов были выбраны 2 блока IGEV (дексаметазон, ифосфамид, винорелбин, гемцитабин), у 20% ($n = 4$) – IGEV №1 в комбинации с другими блоками: IEP (ифосфамид, этопозид, преднизолон), ICE (этопозид, ифосфамид, карбоплатин), DNAP (дексаметазон, цисплатин, цитарабин), у 10% ($n = 2$) – ViGePP (винорелбин, гемцитабин, прокарбазин, дексаметазон). БВ получали все пациенты либо в монорежиме, либо в составе блоков ХТ. Медиана количества введений БВ составила 5 (2–13). Аутологичная ТГСК (ауто-ТГСК) до перехода на терапию иИКТ проведена в 35% ($n = 7$) случаев.

Среди всех пациентов, включенных в исследование, 45% ($n = 9$) получали иИКТ в первом рефрактерном рецидиве, 40% ($n = 8$) – из-за рефрактерной прогрессии заболевания, 15% ($n = 3$) – в терапии второго рецидива.

Медиана времени от начала терапии первой линии до перехода на иИКТ составила 1,2 года, межквартильный размах (МКР) – 0,8–1,57 года. Средний возраст на начало терапии иИКТ составил $15,1 \pm 2,6$ года. Все пациенты кроме одного не ответили на терапию предыдущей линии или рецидивировали. Один пациент получал ниволумаб в качестве консолидирующей терапии после окончания ЛТ.

Среди всех пациентов 70% ($n = 14$) получали ниволумаб, 10% ($n = 2$) – в комбинации с другими препаратами. Один пациент получал ниволумаб в комбинации с курсами полихимиотерапии GVD (гемцитабин, винорелбин, липосомальный доксорубин). Один пациент получал ниволумаб в качестве комбинированной терапии, включая БВ, циклофосфамид, ритуксимаб, ЛТ, в связи с прогрессией заболевания, сдавлением трахеи и развитием дыхательной недостаточности. Четыре (20%) пациента получали монотерапию пембролизумабом. Медиана количества курсов иИКТ составила 9 (МКР: 1–16). Максимальное количество курсов ниволумаба составило 16 (медиана 9), пембролизумаба – 9 (медиана 9).

Из анализа были исключены 2 пациента, которые получали иИКТ в комбинации с другими препаратами. Еще в 2 (11,1%) случаях отсутствовали данные об ответе на проводимую терапию: 1 пациент получал ниволумаб в качестве консолидации и 1 – пембролизумаб. Из 16 оставшихся пациентов 9 (56%) достигли метаболического ответа (DS 1–3 балла), 7 (44%) – не достигли (DS 4–5 балла), однако в 1 случае по результатам проведенной биопсии ПЭТ-положительного очага данных за опухолевое поражение не было, таким образом, ответ достигнут у 10 (63%) больных. Среди 16 пациентов с известным катамнезом 13 получали ниволумаб, ПЭТ-негативного ответа достигли 69% ($n = 9$), 3 – пембролизумаб, никто не достиг ПЭТ-негативного ответа, тем не менее у одного из них при повторной биопсии не обнаружена витальная опухоль, дальнейшую терапию не получал.

ТГСК была проведена в 62,7% ($n = 10$) случаев после терапии иИКТ. В 5 случаях выполнена аллогенная ТГСК (алло-ТГСК), в 2 – ауто-ТГСК после достижения ремиссии при терапии ниволумабом. Алло-ТГСК использовалась в качестве консолидирующей терапии у всех пациентов ($n = 3$) после применения пембролизумаба.

В анализ выживаемости вошли все 20 пациентов. Медиана времени наблюдения от начала терапии иИКТ составила 1,2 года (МКР: 0,7–1,5 года). Вероятность ОВ через 1 год составила 69% (95% доверительный интервал (ДИ) 46,4–91,6), через 2 года – 60,4% (95% ДИ 35,1–85,7), через 3 года – 40,3% (95% ДИ 4–76,6) (*рисунок*). Летальный исход зафиксирован в 25% ($n = 5$) случаев от инфекционных осложнений на фоне ремиссии по основному заболеванию.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

На момент написания статьи отсутствуют многоцентровые рандомизированные исследования, направленные на изучение эффективности и безопасности применения иИКТ в детской популяции. Однако в литературе имеются данные о небольших

Таблица

Характеристика пациентов, проводимой терапии и ответа на нее

Table

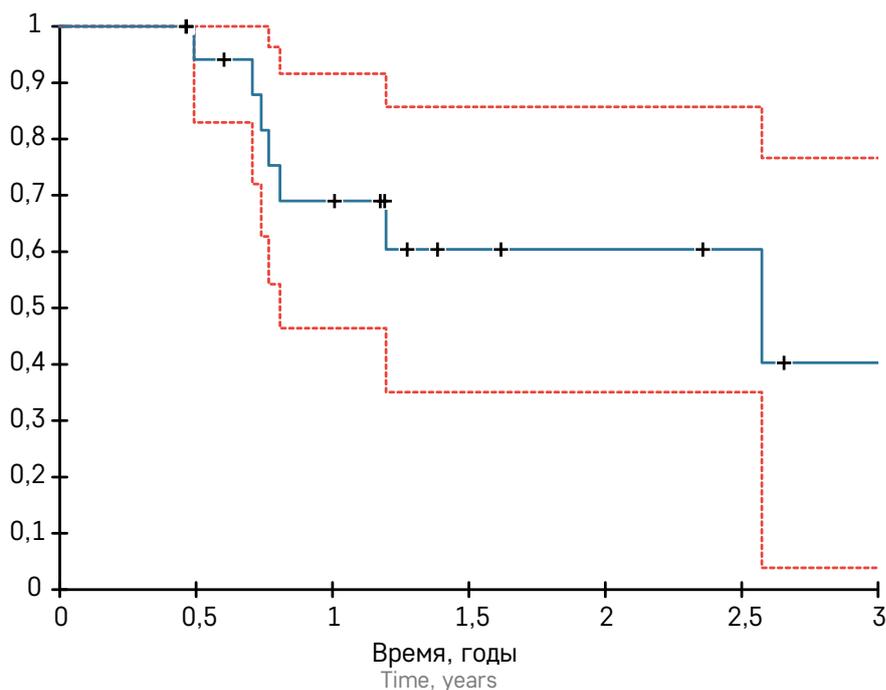
Characteristics of patients, therapy and response to it

Пациент Patient	Пол Gender	Возраст, годы Age, years	Предшествующая терапия Previous therapy	Ауто-ТГСК Auto-HSCT	Терапия иИКТ iICT therapy	Ответ по DS, баллы Response according to the DS, scores	Последующая терапия Subsequent therapy	ТГСК HSCT	Исход Outcome
№1	Женский Female	15,6	2 IGEV 5 BV	1	Ниво-лумаб – 16 Nivo-lumab – 16	3		Алло-ТГСК Allo-HSCT	Смерть в ремиссии от септического шока Death in remission from septic shock
№2	Мужской Male	16,3	2 IGEV 6 BV	1	Ниво-лумаб – 1 Nivolumab – 1	1–2		Алло-ТГСК Allo-HSCT	Смерть в ремиссии от септического шока Death in remission from septic shock
№3	Мужской Male	14,3	1 IGEV 2 BB		Ниво-лумаб – 1 Nivolumab – 1	1–2		Алло-ТГСК Allo-HSCT	Смерть в ремиссии от осложнений ТГСК Death in remission from complications of HSCT
№4	Женский Female	18,7	2 IGEV 1 BB 1 BV 3 BB 8 BV	1	Ниво-лумаб – 11 Nivo-lumab – 11	1–3		Алло-ТГСК Allo-HSCT	Смерть в ремиссии от септического шока Death in remission from septic shock
№5	Мужской Male	17,3	BV IEP BV IGEV BV IGEV BV DHAP BV IEP ЛТ/ radiotherapy 2 GVD		Ниво-лумаб – 4 Nivo-lumab – 4	3	ЛТ Radiotherapy	Ауто-ТГСК Auto-HSCT	Ремиссия Remission
№6	Женский Female	16,1	2 IGEV 2 BB 2 BV BB		Ниво-лумаб – 9 Nivolumab – 9	2		Ауто-ТГСК Auto-HSCT	Ремиссия, планируется ЛТ Remission, radiotherapy planning
№7	Мужской Male	17,6	2 IGEV 4 BB 2 BV	1	Ниво-лумаб – 9 Nivolumab – 9	3			Ремиссия, планируется алло-ТГСК Remission, allo-HSCT planning
№8	Женский Female	15,1	2 IGEV 5 BB 1 BV	1	Ниво-лумаб – 4 Nivolumab – 4	3			Смерть в ремиссии от инфекционных осложнений Death in remission from infectious complications
№9	Женский Female	17	2 ICE 2 IGEV 7 BB 3 BV	1	Ниво-лумаб – 10 Nivo-lumab – 10	3			Ремиссия Remission
№10	Женский Female	14,3	2 IGEV 3 BB 4 BV		Пембролизумаб – 9 Pembrolizumab – 9	4–5	БВ – 4 Ниволизумаб – 6 BV – 4 Nivolumab – 6	Алло-ТГСК Allo-HSCT	Ремиссия Remission
№11	Мужской Male	10,6	2 IGEV 6 BV		Ниво-лумаб – 12 Nivo-lumab – 12	4–5	Ипилимумаб – 4 Ниволизумаб – 9 БВ – 11 Винбластин Ipilimumab – 4 Nivolumab – 9 BV – 11 Vinblastine	Алло-ТГСК Allo-HSCT	Ремиссия Remission
№12	Мужской Male	15,1	2 IGEV 6 BV		Ниво-лумаб – 7 Nivo-lumab – 7	5	Рибомустин – 6 + дексаметазон Ribomustine – 6 + dexamethasone		Ремиссия Remission
№13	Мужской Male	10,8	1 IGEV 3 BB 2 BV		Пембролизумаб – 9 Pembrolizumab – 9	4–5 (биопсия: данных за опухоль нет) 4–5 (no evidence of a tumor by biopsy)		Алло-ТГСК Allo-HSCT	Ремиссия Remission
№14	Мужской Male	8,1	2 IGEV 4 BB		Пембролизумаб – 8 Pembrolizumab – 8	4–5	Ниволизумаб + бендамустин Nivolumab + bendamustine	Алло-ТГСК Allo-HSCT	Ремиссия Remission
№15	Женский Female	14,7	1 ViGePP 2 BV		Ниво-лумаб – 9 Nivolumab – 9	4			Нет данных No data
№16	Женский Female	15,8	1 IEP 1 IGEV 3 BB		Пембролизумаб – 10 Pembrolizumab – 10	4–5	Терапия для ПМВКЛ Therapy for PMBCL		Нет ответа No response

Примечание. ПМВКЛ – первичная медиастинальная В-клеточная лимфома.

Note. HSCT – hematopoietic stem cell transplantation; auto-HSCT – autologous HSCT; allo-HSCT – allogeneic HSCT; BV – brentuximab vedotin; PMBCL – Primary mediastinal B-cell lymphoma.

Рисунок
График ОВ
Figure
Overall survival plot



выборках пациентов, у которых использовались и ИКТ не в первой линии терапии в монорежиме [10–14].

В данное исследование включались пациенты с р/р ЛХ младше 18 лет, которые не ответили на предыдущие линии терапии или рецидивировали после них, примечательно, что все они получали БВ. Таким образом, все пациенты в данной когорте кроме одного, который получал ниволумаб в качестве консолидирующей терапии, были рефрактерны ко всем предшествующим линиям терапии, включая БВ.

В нашем исследовании 13 пациентов получали ниволумаб в монорежиме 3 мг/кг 1 раз в 2 нед, 9 (69%) достигли ПЭТ-негативности. В исследовании Kozlov и соавт. ПО достигли 8 (62%) из 13 больных, в работе K.L. Davis и соавт. только в 1 (10%) случае была достигнута ПЭТ-негативность [11, 12].

Применение пембролизумаба у детей и подростков в монорежиме для лечения классической ЛХ в литературе описывается единичными наблюдениями. Наибольшее число пациентов вошли в исследование Georger и соавт. ($n = 15$) со следующими результатами: ПО достигли 2 (13%), ЧО – 7 (47%) и СЗ наблюдалась у 3 (20%) [10].

Среди 3 пациентов с известной информацией об ответе на терапию, получавших пембролизумаб в дозовом режиме 2 мг/кг 1 раз в 3 нед, все оказались ПЭТ-положительными (DS 4–5 баллов) после проведенного лечения. Однако у 1 пациента после биопсии ПЭТ-положительного очага данных за наличие опухолевого поражения не обнаружено. В последу-

ющем ему проведена алло-ТГСК, пациент находится в ремиссии. Еще 2 человека получили комбинированную терапию с проведением алло-ТГСК после достижения ПО, оба сохраняют ремиссию по основному заболеванию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ограничениями проведенного исследования являются его ретроспективный характер, а также разнообразие проводимой пациентам терапии. Тем не менее, учитывая относительную редкость р/р ЛХ у детей и подростков, эти данные показывают, что ИКТ является эффективным методом терапии даже в случае рефрактерности или рецидива после проведенной терапии второй и третьей линий, включая БВ (100%) и ауто-ТГСК (35%). Для более раннего внедрения ИКТ в терапию р/р ЛХ необходимы дальнейшие крупные исследования.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Tuzova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7844-9858>

Evstratov D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2801-7421>

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

Korsantiya M.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7837-6890>

Fisyun I.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9050-7822>

Litvinov D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7461-0050>

Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Литература

1. Connors J.M., Cozen W., Steidl C., Carbone A., Hoppe R.T., Flechtner H.H., et al. Hodgkin lymphoma. *Nat Rev Dis Primers* 2020; 6 (1): 61. DOI: 10.1038/s41572-020-0189-6
2. Mauz-Korholz C., Metzger M.L., Kelly K.M., Schwartz C.L., Castellanos M.E., Dieckmann K., et al. Pediatric Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2015; 33 (27): 2975–85. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.4853
3. Belsky J.A., Hochberg J., Giulino-Roth L. Diagnosis and management of Hodgkin lymphoma in children, adolescents, and young adults. *Best Pract Res Clin Haematol* 2023; 36 (1): 101445. DOI: 10.1016/j.beha.2023.101445
4. Satwani P., Ahn K.W., Carreras J., Abdel-Aziz H., Cairo M.S., Cashen A., et al. A prognostic model predicting autologous transplantation outcomes in children, adolescents and young adults with Hodgkin lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (11): 1416–23.
5. Rusconi C., Ciavarella S., Fabbri A., Flenghi L., Puccini B., Re A., et al. Treatment of very high-risk classical Hodgkin Lymphoma: cases' selection from real life and critical review of the literature. *Acta Biomed* 2020; 91 (S-5): 13–22. DOI: 10.23750/abm.v91iS-5.9911.
6. Advani R.H., Moskowitz A.J., Bartlett N.L., Vose J.M., Ramchandren R., Feldman T.A., et al. Brentuximab vedotin in combination with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin lymphoma: 3-year study results. *Blood* 2021; 138 (6): 427–38. DOI: 10.1182/blood.2020009178
7. Massano D., Carraro E., Mussolin L., Buffardi S., Barat V., Zama D., et al. Brentuximab vedotin in the treatment of paediatric patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma: Results of a real-life study. *Pediatr Blood Cancer* 2022; 69 (10): e29801. DOI: 10.1002/pbc.29801
8. Long A.H., Morgenstern D.A., Leruste A., Bourdeaut F., Davis K.L. Checkpoint Immunotherapy in Pediatrics: Here, Gone, and Back Again. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2022; 42: 781–94.
9. Munir F., Hardit V., Sheikh I.N., AlQahatani S., He J., Cuglievan B., et al. Classical Hodgkin Lymphoma: From Past to Future—A Comprehensive Review of Pathophysiology and Therapeutic Advances. *Int J Mol Sci* 2023; 24 (12): 10095. DOI: 10.3390/ijms241210095
10. Georger B., Kang H.J., Yalon-Oren M., Marshall L.V., Vezina C., Pappo A., et al. Pembrolizumab in paediatric patients with advanced melanoma or a PD-L1-positive, advanced, relapsed, or refractory solid tumour or lymphoma (KEY-NOTE-051): interim analysis of an open-label, single-arm, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol* 2020; 21 (1): 121–33. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30671-0
11. 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 (ADVL1412): a multicentre, open-label, single-arm, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol* 2020; 21: 541–50.
12. Kozlov A.V., Kazantzev I.V., Lukhta T.V., Tolkunova P.S., Zvyagintseva D.A., Gevorgian A.G., et al. Nivolumab in pediatric Hodgkin's lymphoma. *Cell Ther Transplant* 2019; 8 (4): 41–8.
13. Harker-Murray P., Mauz-Körholz C., Leblanc T., Mascarin M., Michel G., Cooper S., et al. Nivolumab and brentuximab vedotin with or without bendamustine for R/R Hodgkin lymphoma in children, adolescents, and young adults. *Blood* 2023; 141 (17): 2075–84. DOI: 10.1182/blood.2022017118
14. Mauz-Korholz C., Kelly K.M., Keller F.G., Giulino-Roth L., Nahar A., Balakumaran A. KEY-NOTE-667: phase 2, open-label study of pembrolizumab in children and young adults with newly diagnosed classical Hodgkin lymphoma (cHL) with slow early response (SER) to frontline chemotherapy. *J Clin Oncol* 2018; 36 (15_Suppl).

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-165-171

Экстракорпоральная мембранная оксигенация у детей с онкогематологическими заболеваниями

Е.А. Рядинская¹, А.Ю. Иванашкин¹, А.С. Рыбалко², В.В. Лазарев^{1,2}, И.А. Крюков¹, А.А. Павленко¹, Д.Н. Арзин³

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

²ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Минздрава Республики Татарстан, Казань

Развитие современных технологий и увеличение частоты развития тяжелого педиатрического острого респираторного дистресс-синдрома у детей с онкогематологическими заболеваниями позволяют пересмотреть показания для экстракорпоральной мембранной оксигенации у данной группы пациентов. В обзоре литературы представлены сведения о применении экстракорпоральной мембранной оксигенации у детей с онкогематологическими заболеваниями и после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, которые демонстрируют повышение выживаемости этих пациентов за последнее десятилетие.

Ключевые слова: дети, онкогематологические заболевания, экстракорпоральная мембранная оксигенация, экстракорпоральная поддержка жизни, педиатрический острый респираторный дистресс-синдром, острая дыхательная недостаточность, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, иммунная терапия

Рядинская Е.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 165–71. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-165-171

Extracorporeal membrane oxygenation in children with oncohematological diseases

E.A. Ryadinskaya¹, A.Yu. Ivanashkin¹, A.S. Rybalko², V.V. Lazarev^{1,2}, I.A. Kryukov¹, A.A. Pavlenko¹, D.N. Arzin³

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

²The N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

³Children's Republican Clinical Hospital of Ministry of Healthcare of the Republic of Tatarstan, Kazan

The development of modern technologies and an increase in the incidence of severe pediatric acute respiratory distress syndrome in children with oncohematological diseases provide some evidence for the medical society to reconsider the indications for extracorporeal membrane oxygenation in this group of patients. The literature review presents an analysis of recent studies on extracorporeal membrane oxygenation usage in children with oncohematological diseases and after hematopoietic stem cell transplantation. The reviewed studies revealed an improvement of the survival rate among such patients over the last decade.

Key words: children, oncohematological diseases, extracorporeal membrane oxygenation, extracorporeal life support, pediatric acute respiratory distress syndrome, acute respiratory failure, hematopoietic stem cell transplantation, immune therapy

Ryadinskaya E.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 165–71. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-165-171

В течение последних 30 лет благодаря совершенствованию методов терапии детей с онкогематологическими заболеваниями удалось добиться у них снижения летальности с 85 до 20%, что подтверждается данными отечественной и зарубежной литературы [1–4].

Однако по-прежнему 35–40% этих детей требуют перевода в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), что связано с проводимой полихимиотерапией, тяжелой нейтропенией, последствиями лучевой терапии, осложнениями после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) или прогрессией основного заболевания [5, 6].

Одной из причин перевода детей с онкогематологическими заболеваниями в ОРИТ является острая

дыхательная недостаточность (ОДН), которая сопровождается высокой летальностью при развитии тяжелого педиатрического острого респираторного дистресс-синдрома (ПОРДС) [7, 8].

Наиболее неблагоприятный исход при развитии тяжелого ПОРДС отмечался у пациентов после аллогенной ТГСК, летальность у которых ранее достигала 95–100% [9–11].

Согласно рекомендациям Второй согласительной конференции группы по педиатрическому острому легочному повреждению (Pediatric Acute Lung Injury Consensus Conference, PALICC-2), ПОРДС определяется как повреждение легких некардиогенной этиологии с тяжелой гипоксемией, соответствующей индексу оксигенации (ИО) ≥ 16 или индексу сату-

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 11.12.2023

Принята к печати 16.01.2024



EDN: QGWJPI

Контактная информация:

Рядинская Елена Андреевна, врач-анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии №2 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: ryadinskaya.elena@yandex.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 11.12.2023

Accepted 16.01.2024

Correspondence:

Elena A. Ryadinskaya, an anesthesiologist-intensivist at Intensive Care Unit No. 2 of 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., 117997, Moscow, Russia
E-mail: ryadinskaya.elena@yandex.ru

рации (ИС) $\geq 12,3$ для пациентов на искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 100$ или $\text{SpO}_2/\text{FiO}_2 \leq 150$ для пациентов на неинвазивной ИВЛ (НИВЛ) (таблица 1).

Рекомендуемая рабочей группой стратегия эскалации респираторной поддержки при тяжелом ПОРДС подразумевает использование экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО) как единственного жизнеспасающего метода при неэффективности традиционной ИВЛ (рисунок) [12].

ЭКМО – метод временного поддержания функции газообмена и/или кровообращения при критической, потенциально обратимой сердечной и/или легочной недостаточности, рефрактерной к стандартной интенсивной терапии [13, 14].

Первое успешное применение ЭКМО было проведено Дж. Дональдом Хиллом в 1972 г. пациенту с травматическим разрывом аорты [15].

В начале 1980-х годов Роберт Х. Бартлетт использовал ЭКМО у новорожденных с рефрактерной ОДН и в 1989 г. создал организацию экстракорпорального обеспечения (Extracorporeal Life Support Organization, ELSO) для развития технологии и поддержки медицинских специалистов [16].

С тех пор методика ЭКМО непрерывно совершенствуется. Технические характеристики и качество используемых компонентов модифицируются, способствуя большей биологической совместимости материалов контура и организма пациента. Благодаря развитию современных технологий удалось конкретизировать и расширить показания к проведению ЭКМО, добиться увеличения выживаемости пациентов и снизить частоту развития осложнений при данной процедуре [17].

По данным международного регистра случаев ЭКМО за 2023 г., выживаемость в педиатрической группе при респираторных и кардиальных показаниях увеличилась до 73% [18], хотя еще 5 лет назад при респираторных показаниях она составляла 58%, при кардиальных причинах – 52% [19].

Исследования последних десятилетий также демонстрируют увеличение выживаемости среди детей с онкогематологическими заболеваниями и после ТГСК при ЭКМО и расширение показаний к ЭКМО у пациентов данной группы [20–22].

В настоящее время за рубежом ЭКМО широко используется в повседневной практике врачей-анестезиологов-реаниматологов, существуют программы экстракорпорального жизнеобеспечения для детей, дающие шанс на выздоровление при обратимых причинах тяжелой сердечной и/или легочной недостаточности или при возможности проведения трансплантации органов.

Несмотря на улучшение результатов лечения детей с онкогематологическими заболеваниями и после аллогенной ТГСК, госпитализированных в ОРИТ, использование ЭКМО у этих групп пациентов ограничено, так как онкогематологические пациенты относятся к группе высокого риска по развитию необратимых осложнений с низкими шансами на выживаемость при проведении данной процедуры.

По этой причине многие авторы утверждали, что у детей с онкогематологическими заболеваниями и/или после ТГСК нецелесообразно выполнять ЭКМО [23–25].

Однако на данный момент профильные специалисты предлагают использовать индивидуальный

Таблица 1

Критерии постановки диагноза ПОРДС и оценки его степени тяжести

Table 1

The criteria for the diagnosis of pediatric acute respiratory distress syndrome (PARDS) and for the assessment of its severity

Критерий Criterion	Характеристика Characteristics																
Возраст Age	Исключаются пациенты с врожденными заболеваниями легких Patients with congenital lung diseases are excluded																
Время Timing	В течение 7 дней до известного клинического события Within 7 days of a known clinical insult																
Этиология отека Origin of edema	Отек легких, который нельзя полностью объяснить сердечной недостаточностью и перегрузкой жидкостью Pulmonary edema which can not be fully explained by cardiac failure or fluid overload																
Рентгенография X-ray	Визуализация новых инфильтративных изменений в легких New infiltrative changes in the lungs																
Оксигенация Oxygenation	НИВЛ Noninvasive mechanical ventilation (NIV)		ИВЛ Invasive mechanical ventilation														
	CPAP 5 cmH ₂ O $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 3'00$ $\text{SpO}_2/\text{FiO}_2 \leq 264$		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Легкий ПОРДС Mild PARDS</th> <th>Средний ПОРДС Moderate PARDS</th> <th>Тяжелый ПОРДС Severe PARDS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>$4 \leq \text{IO} < 8$</td> <td>$8 \leq \text{IO} < 16$</td> <td>$\text{IO} \geq 16$</td> </tr> <tr> <td>$5 \leq \text{IS} < 7,5$</td> <td>$7,5 \leq \text{IS} < 12,3$</td> <td>$\text{IS} \geq 12,3$</td> </tr> <tr> <td>$4 \leq \text{OI} < 8$</td> <td>$8 \leq \text{OI} < 16$</td> <td>$\text{OI} \geq 16$</td> </tr> <tr> <td>$5 \leq \text{OSI} < 7,5$</td> <td>$7,5 \leq \text{OSI} < 12,3$</td> <td>$\text{OSI} \geq 12,3$</td> </tr> </tbody> </table>	Легкий ПОРДС Mild PARDS	Средний ПОРДС Moderate PARDS	Тяжелый ПОРДС Severe PARDS	$4 \leq \text{IO} < 8$	$8 \leq \text{IO} < 16$	$\text{IO} \geq 16$	$5 \leq \text{IS} < 7,5$	$7,5 \leq \text{IS} < 12,3$	$\text{IS} \geq 12,3$	$4 \leq \text{OI} < 8$	$8 \leq \text{OI} < 16$	$\text{OI} \geq 16$	$5 \leq \text{OSI} < 7,5$	$7,5 \leq \text{OSI} < 12,3$
Легкий ПОРДС Mild PARDS	Средний ПОРДС Moderate PARDS	Тяжелый ПОРДС Severe PARDS															
$4 \leq \text{IO} < 8$	$8 \leq \text{IO} < 16$	$\text{IO} \geq 16$															
$5 \leq \text{IS} < 7,5$	$7,5 \leq \text{IS} < 12,3$	$\text{IS} \geq 12,3$															
$4 \leq \text{OI} < 8$	$8 \leq \text{OI} < 16$	$\text{OI} \geq 16$															
$5 \leq \text{OSI} < 7,5$	$7,5 \leq \text{OSI} < 12,3$	$\text{OSI} \geq 12,3$															
Специфические пациенты Specific patients	Цианотичные пороки сердца Хронические заболевания легких Дисфункция левого желудочка сердца Cyanotic heart diseases Chronic lung diseases Left ventricular dysfunction																

Примечание. CPAP – постоянное положительное давление в дыхательных путях.
Note. CPAP – continuous positive airway pressure; OI – oxygenation index; OSI – oxygen saturation index.

подход при решении вопроса о начале ЭКМО, учитывать курабельность пациента, диагноз, стадию и прогноз онкогематологического заболевания [22, 26, 27].

Целями данного обзора литературы являются анализ современных исследований и обобщение мирового опыта применения ЭКМО у детей с онкогематологическими заболеваниями и после ТГСК.

Обзор литературы включает анализ печатных и электронных изданий по ЭКМО у детей с онкогематологическими заболеваниями и после ТГСК, в том числе учебники, рукописи, международные рекомендации, данные международных опросов и статистику сообществ ELSO. Поиск проводился по основным глобальным информационным системам: PubMed, Google Scholar, eLIBRARY с использованием ключевых слов и их комбинаций.

В обзор вошли метаанализы, мультицентровые исследования, в том числе анализы баз данных ELSO, одноцентровые исследования и клинические случаи.

Метаанализ группы POKER (PICU Oncology Kids in Europe Research group), включавший 13 ретроспективных когортных исследований и 625 онкогематологических педиатрических пациентов, которым

применялась ЭКМО, показал, что наиболее частым показанием к ней была тяжелая ОДН (92%). Общая летальность во время ЭКМО составила 55%, а общая госпитальная летальность – 60%. Характеристика включенных исследований и результаты летальности представлены в *таблице 2* [28].

В мультицентровое ретроспективное когортное исследование, объединившее 10 медицинских центров в период с 2011 по 2016 г., вошли 204 ребенка, перенесших вено-венозную ЭКМО, 21 из них были дети с онкогематологическими заболеваниями и 9 детей, перенесших аллогенную ТГСК. Показаниями к ЭКМО у всех пациентов был тяжелый ПОРДС с ИО > 40 как компонент синдрома полиорганной недостаточности. В группе пациентов с онкогематологическими заболеваниями выживаемость составила 38%, в группе детей после ТГСК – 33%. Низкая выживаемость регистрировалась среди пациентов, у которых показаниями к ТГСК были злокачественные новообразования, по сравнению с детьми с другими показаниями (серповидноклеточная анемия, остеопетроз, анемия Даймонда–Блекфена). Авторами было отмечено, что аплазия кроветворения ассоциирована с повышенной частотой осложнений на ЭКМО, таких как геморрагические и инфекционные, однако досто-

Рисунок

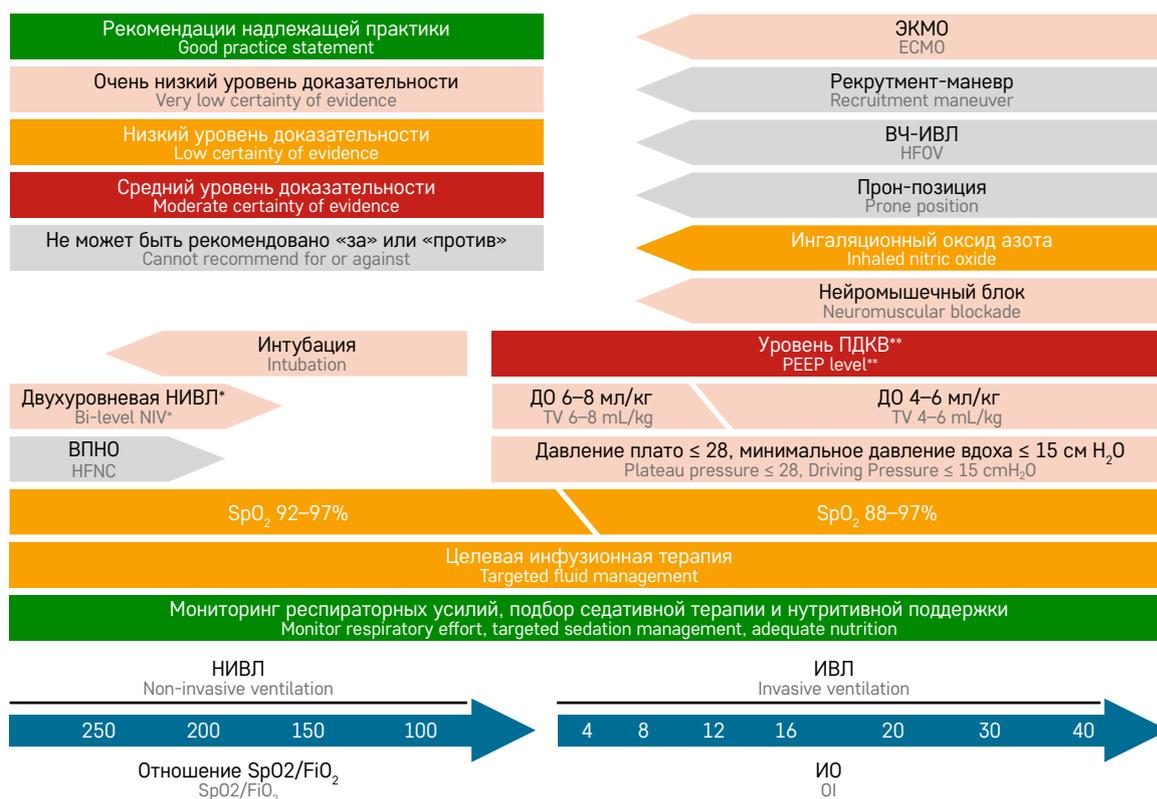
Схематичное изображение ключевых этапов в терапии ПОРДС по PALICC-2

ПДКВ – положительное давление в конце выдоха; ДО – дыхательный объем; ВПНО – высокопоточная назальная оксигенация; ВЧ-ИВЛ – высокочастотная ИВЛ. * – CPAP, если невозможно применение двухуровневой поддержки НИВЛ; ** – по таблице «Отношение ПДКВ/FiO₂»

Figure

Schematic representation of the key steps in the treatment of PARDS according to PALICC-2

PEEP – positive end-expiratory pressure; TV – tidal volume; HFNC – high-flow nasal cannula oxygen therapy; HFOV – high frequency oscillatory ventilation. * – CPAP, if unable to tolerate bilevel NIV; ** – see PEEP/FiO₂ table



верных данных по увеличению летальности в связи с этими осложнениями не выявлено [39].

Ретроспективный анализ данных центров ELSO, касающийся длительного использования ЭКМО у детей после аллогенной ТГСК за период с 1990 по 2019 г., показал, что первичная невысокая общая выживаемость, которая составляла 19%, за последнее десятилетие выросла до 26% [20].

Ретроспективное исследование Регистра исходов ЭКМО (Pediatric ECMO Outcomes Registry) с 2011 по 2018 г. продемонстрировало выживаемость 61,1% у детей с онкогематологическими заболеваниями и после ТГСК, что было сопоставимо с выживаемостью «общереанимационных» пациентов [21].

Однако в другом одноцентровом ретроспективном анализе была зафиксирована более высокая летальность (71%) и отмечена бóльшая потребность в гемотрансфузиях у детей с онкогематологическими заболеваниями по сравнению с детьми «общереанимационного» профиля, несмотря на схожую клиническую картину до подключения ЭКМО [35].

В ретроспективном исследовании, объединившем базы данных Virtual PICU Systems и Центра международных исследований трансплантации костного мозга, проанализированы 936 детей после ТГСК. Летальность в ОРИТ составила 17,4%, общая летальность – 28,5%. Летальность среди этих пациентов была выше при необходимости в замещении функций органов и при ИВЛ составила 44%, при почечно-заместительной терапии – 56%, при ЭКМО – 77,8% [40].

Таблица 2

Характеристика исследований, вошедших в метаанализ, и результаты летальности

Table 2

Characteristics of studies included in the meta-analysis and mortality rate

Авторы Authors	Период Time span	Число пациентов Number of patients	Диагноз Diagnosis	Госпитальная летальность, n (%) Hospital mortality, n (%)
Linden et al. [29]	Неизвестно Unknown	4	Злокачественные новообразования Malignant neoplasms	1/4 (25)
Gupta et al. [25]	1985–2004	60	Иммунокомпрометированные состояния Immunocompromised conditions	44/60 (73)
Gow et al. [26]	1992–2007	107	Злокачественные новообразования Malignant neoplasms	70/107 (65,4)
Meister et al. [30]	Неизвестно Unknown	4	Лейкемия Leukemia	2/4 (50)
Di Nardo et al. [31]	1991–2012	15	Пациенты после ТГСК Patients after HSCT	14/15 (93)
Smith et al. [32]	1993–2014	9	Нейтропенический сепсис Neutropenic sepsis	5/9 (66)
Bailey et al. [33]	2001–2013	161	Первичная патология легких Primary lung pathology	101/161 (62,7)
Cortina et al. [34]	2004–2007	9	Лейкемия Leukemia	5/9 (56)
Maue et al. [35]	2011–2016	5	Злокачественные новообразования и/или пациенты после ТГСК Malignant neoplasms and/or patients after HSCT	5/5 (100)
Steppan et al. et al. [21]	2011–2018	16	Злокачественные новообразования и/или пациенты после ТГСК Malignant neoplasms and/or patients after HSCT	6/16 (37,5)
Ranta et al. [36]	2008–2016	12	Онкогематологические заболевания Oncohematological diseases	6/12 (50)
Coleman et al. [37]	2004–2013	200	Злокачественные новообразования Malignant neoplasms	126/200 (63)
Friedman et al. [38]	2011–2016	23	Онкогематологические заболевания Oncohematological diseases	Неизвестно Unknown

В мировой литературе встречается описание клинических случаев успешного применения ЭКМО у детей с онкогематологическими заболеваниями [41–43].

Одним из таких примеров является применение ЭКМО у ребенка с тяжелой ОДН, обусловленной полным сдавлением дыхательных путей первичной медиастинальной В-клеточной лимфомой, проникающей в трахею. В течение экстракорпоральной поддержки жизни были выполнены фтордезоксиглюкозная позитронно-эмиссионная томография, курс полихимиотерапии и лучевой терапии. В результате уменьшения массы опухоли после проведенного лечения пациент был отключен от ЭКМО и в дальнейшем выписан из стационара [41].

По мере улучшения результатов выживаемости у детей с онкогематологическими заболеваниями на ЭКМО отмечается изменение мнения в профессиональном сообществе относительно ее применения у данной группы пациентов.

В 2009 г. при опросе центров ELSO выявлено, что 5% респондентов считали злокачественное новообразование абсолютным противопоказанием и 17% – относительным противопоказанием к ЭКМО [26].

При этом рефрактерная ОДН у пациентов после ТГСК в раннем посттрансплантационном периоде считалась абсолютным противопоказанием к ЭКМО [44].

Проведенный в 2021 г. опрос специалистов США, Канады и Европы, в котором приняли участие

210 врачей из отделений детской интенсивной терапии и онкогематологии, показал, что 99,5% участников рассматривают детей с онкогематологическими заболеваниями, после ТГСК и иммунной терапии в качестве кандидатов на ЭКМО и только 0,5% специалистов считают ТГСК абсолютным противопоказанием к ЭКМО. На вопрос, связанный с отбором кандидатов, 23% ответили, что имеют локальные протоколы по подбору кандидатов на ЭКМО в этой группе пациентов [45].

Первые международные рекомендации по ЭКМО у детей после ТГСК и иммунной терапии были опубликованы в 2022 г. [27].

В рекомендациях было достигнуто полное соглашение исследовательской группы по следующим утверждениям:

- ЭКМО может рассматриваться для пациентов после ТГСК с доброкачественными заболеваниями или злокачественными новообразованиями при условии низкого риска рецидива и адекватной оценки безрецидивной выживаемости (> 30% безрецидивной выживаемости в течение 1 года) [46];

- ЭКМО следует рассматривать только при высоких шансах на выздоровление от критического заболевания в течение ограниченного периода времени (2–3 нед) [47];

- должна проводиться оценка степени органной дисфункции;

- необходимо организовывать междисциплинарные обсуждения с привлечением членов семьи пациента;

- прекращение ЭКМО в случаях необратимых осложнений.

Таким образом, учитывая актуальные данные литературы, онкогематологические заболевания и ТГСК не должны рассматриваться как абсолютные противопоказания к проведению вено-венозной ЭКМО при ПОРДС.

Согласно исследованию Американского сообщества по изучению острого повреждения легких и сепсиса в педиатрии (Pediatric Acute Lung Injury and Sepsis Investigators), отбор кандидатов на ЭКМО должен осуществляться индивидуально на основании разработанных критериев [22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Успехи в лечении детей с онкогематологическими заболеваниями и после ТГСК и иммунной терапии значительно повысили их выживаемость, в связи с чем показания к ЭКМО в этой группе пациентов пересмотрены.

Учитывая рост выживаемости детей с онкогематологическими заболеваниями и после ТГСК, конкретизацию и расширение показаний к экстракорпоральным методам жизнеобеспечения, эти пациенты могут рассматриваться в качестве кандидатов на ЭКМО.

Анализ литературы подтверждает, что использование ЭКМО у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и после ТГСК возможно при индивидуальном подходе к выбору кандидатов, наличии опытной мультидисциплинарной команды и технических возможностей.

В настоящее время в России недостаточно опубликованных научных данных для составления клинических рекомендаций по ЭКМО у детей с онкогематологическими заболеваниями и после ТГСК, что требует начала исследований по этой проблеме.

Международное сообщество рекомендует продолжать научную работу в области ЭКМО у детей с онкогематологическими заболеваниями и после ТГСК для улучшения исходов терапии, учитывая накопленный опыт.

Будущие исследования по данной проблеме должны включать разработку алгоритма по отбору кандидатов на ЭКМО, определение сроков начала процедуры, подбор стратегий лечения, в том числе антикоагулянтной и инфузионной терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Ryadinskaya E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6120-6331>

Ivanashkin A.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4348-4573>

Литература

- Smith M., Hare M.L. An overview of progress in childhood cancer survival. *J Pediatr Oncol Nurs* 2004; 21 (3): 160–4.
- Davidoff A.M. *Pediatric Oncology. Semin Pediatr Surg* 2010; 19 (3): 225–33.
- Nakata K., Ito Y., Magadi W., Bonaventure A., Stiller C.A., Katano K., et al. Childhood cancer incidence and survival in Japan and England: A population-based study (1993–2010). *Cancer Sci* 2018; 109 (2): 422–34.
- Румянцев А.Г. Эволюция лечения острого лимфобластного лейкоза у детей: эмпирические, биологические и организационные аспекты. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2015; 14 (1): 5–15. DOI:

- 10.24287/1726-1708-2015-14-1-5-15 [Rumyantsev A.G. Evolution of therapy for acute lymphoblastic leukemia in children: Empirical, biological, and organizational aspects. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2015; 14 (1): 5–15. (In Russ.)].
5. Chima R.S., Daniels R.C., Kim M.-O., Li D., Wheeler D.S., Davies S.M., Jodele S. Improved outcomes for stem cell transplant recipients requiring pediatric intensive care. *Pediatr Crit Care Med* 2012; 13 (6): e336–42.
 6. Wösten-van Asperen R.M., van Gestel J.P.J., van Grotel M., Tschiedel E., Dohna-Schwake C., Valla F.V., et al. PICU mortality of children with cancer admitted to pediatric intensive care unit a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2019; 142: 153–63.
 7. Owens C., Mannion D., O'Marcaigh A., Waldron M., Butler K., O'Meara A. Indications for admission, treatment and improved outcome of paediatric haematology/oncology patients admitted to a tertiary paediatric ICU. *Ir J Med Sci* 2011; 180 (1): 85–9.
 8. Dursun O., Hazar V., Tezcan Karasu G., Uygun V., Tosun O., Yesilipek A. Prognostic factors in pediatric cancer patients admitted to the pediatric intensive care unit. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009; 31 (7): 481–4.
 9. Bojko T., Notterman D.A., Greenwald B.M., De Bruin W.J., Magid M.S., Godwin T. Acute hypoxemic respiratory failure in children following bone marrow transplantation: an outcome and pathologic study. *Crit Care Med* 1995; 23 (4): 755–9.
 10. Nichols D.G., Walker L.K., Wingard J.R., Bender K.S., Bezman M., Zahurak M.L., et al. Predictors of acute respiratory failure after bone marrow transplantation in children. *Crit Care Med* 1994; 22 (9): 1485–91.
 11. DeBruin W., Notterman D.A., Magid M., Godwin T., Johnston S. Acute hypoxemic respiratory failure in infants and children: clinical and pathologic characteristics. *Crit Care Med* 1992; 20 (9): 1223–34.
 12. Emeriaud G., López-Fernández Y.M., Prabhu Iyer N., Bembea M.M., Agulnik A., Barbaro R.P., et al. Executive Summary of the Second International Guidelines for the Diagnosis and Management of Pediatric Acute Respiratory Distress Syndrome (PALICC-2). *Pediatr Crit Care Med* 2023; 24 (2): 143–68.
 13. Корнилов И.А. Экстракорпоральная поддержка жизни в педиатрии. Патология кровообращения и кардиохирургия 2018; 22 (4): 35–47. DOI: 10.21688/1681-3472-2018-4-35-47 [Kornilov I.A. Extracorporeal life support in pediatric patients. *Circulation Pathology and Cardiac Surgery* 2018; 22 (4): 35–47. (In Russ.)].
 14. Лысенко М.А., Кецкало М.В., Андреев С.С., Ибрагимов И.П., Нечаев Д.С., Рогова Л.В. Экстракорпоральная мембранная оксигенация. Практические рекомендации. Под ред. О.Э. Луцевича. СПб.: ООО «Технопроект»; 2020. 72 с. [Lysenko M.A., Ketskalo M.V., Andreev S.S., Ibragimov I.P., Nechaev D.S., Rogova L.V. Extracorporeal membrane oxygenation. Practical recommendations. Edited by O.E. Lutsevich. Saint Petersburg: ООО Technoproject; 2020. p 72. (In Russ.)].
 15. Hill J.D., O'Brien T.G., Murray J.J., Dontigny L., Bramson M.L., Osborn J.J., Gerbode F. Prolonged extracorporeal oxygenation for acute post-traumatic respiratory failure (shock-lung syndrome). Use of the Bramson membrane lung. *N Engl J Med* 1972; 286 (12): 629–34.
 16. Bartlett R.H., Andrews A.F., Toomasian J.M., Haiduc N.J., Gazzaniga A.B. Extracorporeal membrane oxygenation for newborn respiratory failure: forty-five cases. *Surgery* 1982; 92 (2): 425–33.
 17. Ben Sivarajan V., Best D., Brizard C.P., Shekerdemian L.S., D'Udekem Y., Horton S.B., Warwick B. Improved outcomes of paediatric extracorporeal support associated with technology change. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2010; 11 (4): 400–5.
 18. Extracorporeal Life Support Organization. International Summary. Ann Arbor, 2023. [Electronic resource] URL: <https://www.else.org/registry/internationalsummaryandreports/internationalsummary.aspx> (accessed 06.02.2024).
 19. Ann Arbor: International Summary. Extracorporeal Life Support Organization. ECLS registry report. 2018. [Electronic resource] URL: <https://www.else.org/registry/internationalsummaryandreports/reports.aspx> (accessed 06.02.2024).
 20. Olson T.L., O'Neil E.R., Kurtz K.J., MacLaren G., Anders M.M. Improving Outcomes for Children Requiring Extracorporeal Membrane Oxygenation Therapy Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Crit Care Med* 2021; 49 (4): E381–93.
 21. Stepan D.A., Coleman R.D., Viamonte H.K., Hanson S.J., Carroll M.K., Klein O.R., et al. Outcomes of pediatric patients with oncologic disease or following hematopoietic stem cell transplant supported on extracorporeal membrane oxygenation: The PEDECOR experience. *Pediatr Blood Cancer* 2020; 67 (10): e28403.
 22. Zinter M.S., McArthur J., Duncan C., Adams R., Kreml E., Dalton H., et al. Candidacy for Extracorporeal Life Support in Children After Hematopoietic Cell Transplantation: A Position Paper From the Pediatric Acute Lung Injury and Sepsis Investigators Network's Hematopoietic Cell Transplant and Cancer Immunotherapy Subgroup. *Pediatr Crit Care Med* 2022; 23 (3): 205–13.
 23. Green T.P., Timmons O.D., Fackler J.C., Moler F.W., Thompson A.E., Sweeney M.F. The impact of extracorporeal membrane oxygenation on survival in pediatric patients with acute respiratory failure. *Pediatric Critical Care Study*. *Crit Care Med* 1996; 24 (2): 323–9.
 24. Masiakos P.T., Islam S., Doody D.P., Schnitzer J.J., Ryan D.P. Extracorporeal membrane oxygenation for nonneonatal acute respiratory failure. *Arch Surg* 1999; 134 (4): 375–80.
 25. Gupta M., Shanley T.P., Moler F.W. Extracorporeal life support for severe respiratory failure in children with immune compromised conditions. *Pediatr Crit Care Med* 2008; 9 (4): 380–5.
 26. Gow K.W., Heiss K.F., Wulkan M.L., Katzenstein H.M., Rosenberg E.S., Heard M.L., et al. Extracorporeal life support for support of children with

- malignancy and respiratory or cardiac failure: The extracorporeal life support experience. *Crit Care Med* 2009; 37 (4): 1308–16.
27. Di Nardo M., Ahmad A.H., Merli P., Zinter M.S., Lehman L.E., Rowan C.M., et al. Extracorporeal membrane oxygenation in children receiving haematopoietic cell transplantation and immune effector cell therapy: an international and multidisciplinary consensus statement. *Lancet Child Adolesc Health* 2022; 6 (2): 116–28.
 28. Slooff V., Hoogendoorn R., Nielsen J.S.A., Pappachan J., Amigoni A., et al. Role of extracorporeal membrane oxygenation in pediatric cancer patients: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Ann Intensive Care* 2022; 12 (1): 1–11.
 29. Lindén V., Karlén J., Olsson M., Palmér K., Ehrén H., Henter J.I., Kalin M. Successful extracorporeal membrane oxygenation in four children with malignant disease and severe *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Med Pediatr Oncol* 1999; 32 (1): 25–31.
 30. Meister B., Zelger B., Kropshofer G., Klein-Franke A., Crazzolaro R., Frühwirth M., Neu N. Extracorporeal membrane oxygenation as a rescue therapy for leukaemic children with pulmonary failure. *Br J Haematol* 2010; 148 (1): 126–31.
 31. Di Nardo M., Locatelli F., Palmer K., Amodeo A., Lorusso R., Belliato M., et al. Extracorporeal membrane oxygenation in pediatric recipients of hematopoietic stem cell transplantation: an updated analysis of the Extracorporeal Life Support Organization experience. *Intensive Care Med* 2014; 40 (5): 754–6.
 32. Smith S., Butt W., Best D., MacLaren G. Long-term survival after extracorporeal life support in children with neutropenic sepsis. *Intensive Care Med* 2016; 42 (5): 942–3.
 33. Bailly D.K., Reeder R.W., Zabrocki L.A., Hubbard A.M., Wilkes J., Bratton S.L., et al. Development and Validation of a Score to Predict Mortality in Children Undergoing Extracorporeal Membrane Oxygenation for Respiratory Failure: Pediatric Pulmonary Rescue With Extracorporeal Membrane Oxygenation Prediction Score. *Crit Care Med* 2017; 45 (1): e58–66.
 34. Cortina G., Neu N., Kropshofer G., Meister B., Klingkowski U., Crazzolaro R. Extracorporeal membrane oxygenation offers long-term survival in childhood leukemia and acute respiratory failure. *Crit Care* 2018; 22 (1): 222.
 35. Maue D.K., Hobson M.J., Friedman M.L., As Moser E., Rowan C.M. Outcomes of pediatric oncology and hematopoietic cell transplant patients receiving extracorporeal membrane oxygenation. *Perfusion* 2019; 34 (7): 598–604.
 36. Ranta S., Kalzén H., Nilsson A., von Schewelov K., Broman L.M., Berner J. Extracorporeal Membrane Oxygenation Support in Children With Hematologic Malignancies in Sweden. *J Pediatr Hematol Oncol* 2021; 43 (2): e272–5.
 37. Coleman R.D., Goldman J., Moffett B., Guffey D., Loftis L., Thomas J., Shekerdemian L. Extracorporeal Membrane Oxygenation Mortality in High-Risk Populations: An Analysis of the Pediatric Health Information System Database. *ASAIO J* 2020; 66 (3): 327–31.
 38. Friedman M.L., Barbaro R.P., Bembea M.M., Bridges B.C., Chima R.S., Kilbaugh T.J., et al. Mechanical Ventilation in Children on Venovenous ECMO. *Respir Care* 2020; 65 (3): 271–80.
 39. Bridges B.C., Kilbaugh T.J., Barbaro R.P., Bembea M.M., Chima R.S., Potera R.M., et al. Veno-Venous Extracorporeal Membrane Oxygenation for Children With Cancer or Hematopoietic Cell Transplant: A Ten Center Cohort. *ASAIO J* 2021; 67 (8): 923–9.
 40. Zinter M.S., Logan B.R., Fretham C., Sapru A., Abraham A., Aljurf M.D., et al. Comprehensive Prognostication in Critically Ill Pediatric Hematopoietic Cell Transplant Patients: Results from Merging the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR) and Virtual Pediatric Systems (VPS) Registries. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26 (2): 333–42.
 41. Rotz S.J., Almeida F.A., Koefman S., Krishnan S., Singh Thind G., Phillips W., et al. Continuous infusion chemotherapy, radiotherapy, and FDG-PET are feasible during extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatr Blood Cancer* 2020; 67 (9): e28429.
 42. Евсютина Е.П., Диникина Ю.В., Смирнова А.Ю., Федулова Е.Е., Терёшина А.А., Кириченко М.М. и др. Экстракорпоральная мембранная оксигенация при остром респираторном дистресс-синдроме у ребенка с опухолью центральной нервной системы. *Онкогематология* 2021; 16 (2): 81–5. DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-2-81-85 [Evstyutina E.P., Dinikina Yu.V., Smirnova A.Yu., Fedulova E.E., Tereshina A.A., Kirichenko M.M., et al. Extracorporeal membrane oxygenation for acute respiratory distress syndrome in a child with central nervous system tumor. *Oncohematology*. 2021; 16 (2): 81–5. (In Russ.)].
 43. Wolfson R.K., Kahana M.D., Nachman J.B., Lantos J. Extracorporeal membrane oxygenation after stem cell transplant: Clinical decision-making in the absence of evidence. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6 (2): 200–3.
 44. MacLaren G. When to initiate ECMO with low likelihood of success. *Crit Care* 2018; 22 (1): 217.
 45. Ghafoor S., Fan K., Di Nardo M., Tailleux A.C., Saini A., Potera R.M., et al. Extracorporeal Membrane Oxygenation Candidacy in Pediatric Patients Treated With Hematopoietic Stem Cell Transplant and Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy: An International Survey. *Front Oncol* 2021; 11: 798236.
 46. Di Nardo M., Locatelli F., Di Florio F., Cecchetti C., Amodeo A., Rutella S., Bertaina A. Extracorporeal membrane oxygenation as a bridge to allogeneic T-cell depleted hematopoietic stem cell transplantation in infants with severe combined immune deficiency: is it feasible? *Intensive Care Med* 2014; 40 (10): 1600–1.
 47. Nasr V.G., Raman L., Barbaro R.P., Guner Y., Tonna J., Ramanathan K., et al. Highlights from the Extracorporeal Life Support Organization Registry: 2006–2017. *ASAIO J* 2019; 65 (6): 537–44.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 31.01.2024
Принята к печати 22.02.2024



EDN: QMHNVL

Контактная информация:

Волчков Егор Васильевич,
врач-гематолог отдела исследования
лимфом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: volchcov.egor@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-172-179

Молекулярный патогенез Т-лимфобластной лимфомы

В.Р. Днепровский¹, А.С. Федорова¹, Д.С. Абрамов¹, Е.В. Волчков^{1,2}, Н.В. Мякова¹

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

²Научно-исследовательский институт молекулярной и клеточной медицины ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

Т-лимфобластная лимфома (Т-ЛБЛ) занимает одно из ведущих мест в структуре неходжкинских лимфом у детей. По классификации Всемирной организации здравоохранения 2022 г. Т-ЛБЛ и острый Т-лимфобластный лейкоз рассматриваются в рамках единой нозологической категории, так как они имеют один и тот же морфологический субстрат – предшественники Т-клеток. За последние годы в лечении этого заболевания достигнуты определенные успехи, однако прогноз при рецидивах и рефрактерном течении до сих пор остается крайне неблагоприятным. Одним из перспективных направлений, способных повысить эффективность терапии, является внедрение новых схем лечения, учитывающих молекулярно-генетические особенности данной опухоли. В настоящем обзоре подробно рассматриваются молекулярные аспекты патогенеза Т-ЛБЛ.

Ключевые слова: Т-лимфобластный лейкоз, Т-лимфобластная лимфома, неходжкинские лимфомы, дети, NOTCH1, FBXW7

Днепровский В.Р. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 172–9. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-172-179

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 31.01.2024
Accepted 22.02.2024

Molecular pathogenesis of T-lymphoblastic lymphoma

V.R. Dneprovskii¹, A.S. Fedorova¹, D.S. Abramov¹, E.V. Volchikov^{1,2}, N.V. Myakova¹

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

²Research Institute of Molecular and Cellular Medicine of the Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

T-lymphoblastic lymphoma (T-LBL) is one of the most common non-Hodgkin lymphomas in children. According to the 2022 WHO classification, T-LBL and acute T-lymphoblastic leukemia are considered as a single disease since they both have T-cell precursors as a morphological substrate. In recent years, some progress has been made in the treatment of this disease, but the prognosis for relapses and refractory cases remains extremely unfavorable. One of the promising areas that can increase the effectiveness of therapy is the use of new treatment approaches that consider the molecular and biological features of this tumor. This review examines in detail the molecular aspects of the pathogenesis of T-LBL.

Key words: T-lymphoblastic leukemia, T-lymphoblastic lymphoma, non-Hodgkin lymphomas, children, NOTCH1, FBXW7

Dneprovskii V.R., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 172–9.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-172-179

Correspondence:
Egor V. Volchikov,
a hematologist at the Lymphoma Research
Department at the Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology and Immunology
of Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: volchcov.egor@yandex.ru

Лимфобластная лимфома (ЛБЛ) – это злокачественное новообразование, развивающееся из предшественников Т-клеток (Т-ЛБЛ) или В-клеток (В-ЛБЛ). Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения 2022 г., острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) и ЛБЛ рассматриваются как разные проявления одного и того же заболевания [1]. Различие между этими двумя нозологиями заключается в экстремедулярной локализации лимфом и количестве бластных клеток в костном мозге (КМ), которое при лимфомах составляет менее 25%. При этом частота возникновения ЛБЛ приблизительно в 9 раз ниже, чем частота возникновения ОЛЛ [2]. Однако в структуре неходжкинских лимфом у детей Т-ЛБЛ занимает одно из ведущих мест и составляет около 30% всех случаев [3]. Молекулярные aberrации в Т-клеточном ОЛЛ (Т-ОЛЛ) в большинстве своем известны и, учитывая общий патогенез, с некоторыми оговорками эти

данные могут быть перенесены на Т-ЛБЛ [4]. Некоторые из этих молекулярных аномалий могут иметь прогностическое значение. В данном обзоре рассмотрены основные гены, мутации в которых приводят к развитию Т-ЛБЛ.

Хромосомные aberrации

Учитывая редкость Т-ЛБЛ у детей, роль хромосомных транслокаций при данном типе лимфом изучена недостаточно. В силу сходных биологических свойств Т-ЛБЛ и Т-ОЛЛ предполагается, что данные заболевания могут иметь одинаковые хромосомные aberrации [5]. Рекуррентные хромосомные транслокации выявляются в 50% случаев Т-ОЛЛ [6]. Чаще всего они представляют собой перестройки, переводящие протоонкогены *TLX1 (HOX11)*, *MEF2C*, *HOXA*, *LMO1*, *LMO2* и *TAL1* под контроль промотора Т-клеточного рецептора (TCR) [7]. При этом происходит усиление экспрессии соответствующих генов, продукты

которых являются транскрипционными факторами, регулирующими различные этапы развития, дифференцировки и созревания Т-клеток. В итоге это ведет к малигнизации и развитию лейкозов и лимфом из предшественников Т-клеток [8, 9]. Также встречаются варианты транслокаций, при которых из-за слияния генов образуются химерные белки, обладающие активностью транскрипционных факторов. К ним относятся *PCIALM::MLLT10*, *STIL::TAL1*, *TLX3::BCL11B* и *NUP214::ABL1*, встречающиеся с частотой 8%, 20%, 15% и менее 5% соответственно, а также более редкие варианты, такие как *EML::ABL1*, *SET::NUP214* [10].

Поскольку транскрипционные факторы участвуют в развитии и дифференцировке Т-клеток, определенные транслокации ассоциированы с различной степенью зрелости Т-ОЛЛ/ЛБЛ, которая определяется по иммунофенотипическим маркерам [11]:

1) группа Т-ОЛЛ из ранних тимических предшественников связана с перестройками генов *HOXA*, *MEF2C*, *BCL11B* и характеризуется наименьшей степенью зрелости, напоминает стволовую клетку по профилю экспрессии генов (*CD34* и/или *CD33*, *CD13*, *CD117*);

2) группа незрелых Т-ОЛЛ отличается высокой частотой перестроек генов *TLX3* и *HOXA*, а также либо отсутствием функционального TCR, либо наличием TCR γ/δ ;

3) группа Т-ОЛЛ из кортикальных Т-клеток характеризуется перестройками генов *TLX1/3*, *NKX2-1/2-2* и *TAL/LMO*, а кроме того, экспрессией *CD1*;

4) группа Т-ОЛЛ из Т-клеток, соответствующих поздним стадиям кортикальной дифференцировки, при которой часто выявляются перестройки генов *TAL/LMO* и экспрессия *sCD3*.

Помимо хромосомных перестроек с образованием химерных генов в патогенезе Т-ЛБЛ важную роль занимают крупные делеции на уровне генов и участков хромосом. К наиболее важным относят делецию длинного плеча 6-й хромосомы (6q). Данная делеция встречается у 19% пациентов и затрагивает гены *GRIK2*, *EPHA7* и *CASP8AP2*, которые участвуют в регуляции апоптоза и пути FAS–FADD–CASPASE8 [12, 13]. Потеря гетерозиготности 6q у детей ассоциирована с неблагоприятным прогнозом при Т-ЛБЛ, но не при Т-ОЛЛ [14]. Другим регионом, который часто подвержен делециям при Т-ОЛЛ/ЛБЛ, является 9p21. Данный регион содержит гены *CDKN2A/2B*. Эти гены кодируют белки, которые участвуют в каскадах RB1 и TP53, выполняя функции опухолевых супрессоров, регулируя G1/S-фазы клеточного цикла [15]. Прогностическое значение данной аберрации у детей с Т-ЛБЛ неизвестно.

Сигнальный путь Notch

Важная роль в патогенезе Т-ЛБЛ отводится сигнальному пути Notch. Это эволюционно консерва-

тивный сигнальный путь, участвующий в регуляции таких фундаментальных клеточных процессов, как пролиферация, дифференцировка, апоптоз и выживание [16]. В частности, этот путь является необходимым для коммитирования гемопоэтических предшественников к развитию по Т-клеточному пути дифференцировки, а также для дальнейшего созревания Т-клеток [17]. Белок Notch является гетеродимерным трансмембранным рецептором, имеющим внеклеточный, трансмембранный и внутриклеточный домены (рисунки). Внеклеточный домен Notch содержит EGF-подобные повторы, необходимые для связывания лиганда, LNR-повторы, препятствующие активации рецептора при отсутствии лиганда [18], и домен гетеродимеризации (HD), обеспечивающий нековалентное связывание внеклеточной и трансмембранной субъединиц этого белка [19]. Всего описано 5 лигандов, активирующих рецептор Notch: *DLL1* [20], *DLL3* [21], *DLL4* [22], *Jagged1* [23] и *Jagged2* [24]. Внутриклеточный домен данного рецептора имеет RAM-домен и анкириновые повторы, которые взаимодействуют с транскрипционными факторами и коактиваторами [25, 26], последовательности ядерной локализации (NLS), домен трансактивации (TAD) для связывания с гистон-ацетилтрансферазами PCAF и GCN5 [27], а также С-терминальную PEST-последовательность, регулирующую процесс деградации и ограничивающую передачу сигнала [19].

После взаимодействия с лигандом происходит расщепление Notch, который благодаря наличию сигнала ядерной локализации транслоцируется в ядро клетки, где связывается с транскрипционным фактором CSL [19], запуская транскрипцию целевых генов. К ним относятся репрессоры транскрипции *HES* и *HEY* [28], проонкоген *MYC* [29], регуляторы клеточного цикла *CDKN1A* [30] и *CCND1* [31], а также *IL2RA* [32], *GATA3* [33] и *PTCRA* [34], необходимые для развития и созревания Т-клеток.

В исследовании, проведенном Вонг и соавт., мутации гена *NOTCH1* были выявлены у 60% пациентов с Т-ЛБЛ [12]. Среди них 85% имели мутации в HD, 37% – в PEST-последовательности, а 3% – в домене трансактивации, также в некоторых из этих случаев наблюдалось сразу несколько сочетанных генетических вариантов. При мутациях, затрагивающих HD, возможно как минимум 2 варианта развития событий: либо снижается стабильность гетеродимера, что облегчает диссоциацию субъединиц Notch1 и последующее расщепление трансмембранной субъединицы металлопротеиназами, либо повышается доступность сайта S2 для металлопротеиназ без влияния на стабильность гетеродимера [35]. В обоих случаях происходит лиганд-независимая активация Notch1, который запускает экспрессию целевых

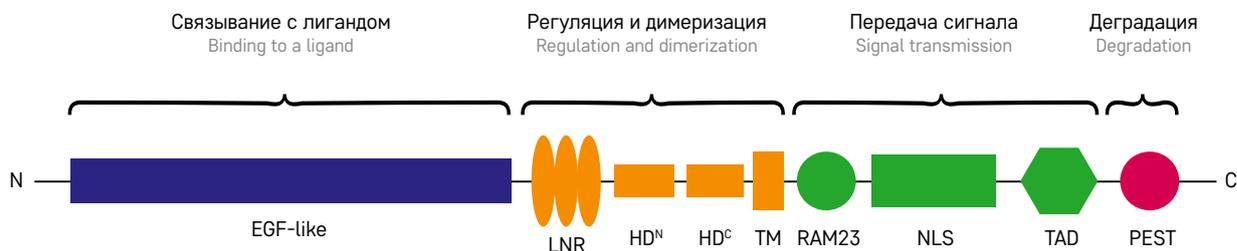
Рисунок**Структура рецептора Notch и функции его доменов**

Слева показан внеклеточный участок, содержащий EGF-повторы, LNR-повторы и HD (после расщепления HD^N остается в одной субъединице Notch, а HD^C – в другой). В правой части изображен внутриклеточный участок Notch, участвующий в передаче сигнала внутри клетки

Figure

The structure of the Notch receptor and the functions of its domains

The left side of the figure shows an extracellular region, containing the EGF repeats, the LNR repeats and heterodimerization (HD) domains (after the cleavage, HD^N remains in one Notch subunit, and HD^C – in the other one). The right side of the figure shows the Notch intracellular region, which is involved in signal transmission within the cell



генов, повышающих выживаемость и усиливающих пролиферацию клеток.

Другим распространенным вариантом являются мутации в PEST-последовательности. Среди таких мутаций известны инсерции и делеции, приводящие к сдвигу рамки считывания, а также точечные мутации, вызывающие преждевременное появление стоп-кодона [36]. Во всех этих случаях происходит полная или частичная утрата нормальной PEST-последовательности, приводящая к нарушению взаимодействия рецептора Notch1 с убиквитинлигазой FBXW7 и нарушению его деградации.

Убиквитинлигаза FBXW7

Еще одним геном, имеющим важное значение в развитии Т-ЛБЛ, является *FBXW7*. Он кодирует белок, содержащий F-бокс и WD40-повторы 7 (*FBXW7*), который является компонентом убиквитинлигазного комплекса SCF (*Skp1-Cul1-Fbox*) и отвечает за распознавание, связывание и убиквитинирование белков-мишеней, тем самым направляя их на деградацию в протеасому 26S [37]. В его структуре имеется 2 типа доменов: F-бокс, отвечающий за связывание с *Skp1* для формирования комплекса SCF [38], и WD40, распознающие и связывающие фосфорилированный субстрат [39]. Его мутации выявляются у 18% пациентов с Т-ЛБЛ [12], чаще всего они представляют собой миссенс-мутации в консервативных участках WD40-доменов [40] и приводят к нарушению распознавания субстратов. К идентифицированным мишеням *FBXW7* относятся уже упомянутый рецептор Notch1 [41], а также транскрипционные факторы с-Мус [42], с-Муб [43] и с-Jun [44], киназы mTOR [45] и Aurora-A [46], компонент γ -секретазного комплекса пресенилин [47] и циклин E [48]. Все они принимают участие в регуляции клеточного цикла, роста, дифференцировки и выживания клеток, поэтому инактивирующие мутации *FBXW7* оказывают влияние на все эти процессы

и способствуют злокачественной трансформации клеток [49].

PTEN и сигнальный путь PI3K/Akt

Ген *PTEN* кодирует фосфатазу, которая является белком-супрессором опухолей, и утрата ее активности выявляется при многих злокачественных новообразованиях [50]. Белок PTEN содержит 5 доменов: фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-связывающий, фосфатазный, C2, C-терминальный хвостовой и PDZ-связывающий [51]. Одной из важных его функций является подавление сигнального пути PI3K/Akt посредством дефосфорилирования фосфатидилинозитол-3,4,5-трисфосфата до фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата [52]. Сам же фосфатидилинозитол-3,4,5-трисфосфат образуется под действием фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K). Всего описано 3 класса PI3K, но в Т-клетках функционируют преимущественно PI3K класса IA [53]. Они являются гетеродимерными белками и состоят из каталитической ($p110\alpha$, β или δ) и регуляторной ($p85\alpha$, $p55\alpha$, $p50\alpha$, $p85\beta$ или $p55\gamma$) субъединиц. Основным рецептором, обеспечивающим активацию PI3K в Т-клетках, считается CD28 [54]. Накопление фосфатидилинозитол-3,4,5-трисфосфата в клеточной мембране приводит к активации PDK1 и протеинкиназ семейства Akt (*Akt1*, *Akt2* и *Akt3*). Мишенями Akt, которые она фосфорилирует и ингибирует, являются транскрипционный фактор FoxO1 [55], положительно регулирующий экспрессию проапоптотических белков и блокаторов клеточного цикла [56], ингибитор циклин-зависимых киназ p27 [57], проапоптотический белок Bad [58] и киназа гликогенсинтазы-3 [59], которая отвечает за деградацию циклинов [60] и транскрипционных факторов с-Мус [61] и с-Jun [44]. Кроме того, Akt фосфорилирует убиквитинлигазу Mdm2 [62], которая транслоцируется в ядро и убиквитинилирует белок-супрессор опухолей p53, направляя его на протеасомную

деградацию. Также Akt опосредованно через инактивацию ингибиторов повышает активность комплекса mTORC1 [63], который дополнительно усиливает выживаемость и рост клеток, а также биосинтез белка. Таким образом, снижение активности PTEN приводит к активации пути PI3K/Akt и к повышению выживаемости, усилению пролиферации и роста клеток. Инактивирующие мутации в гене *PTEN* выявляются у 15% пациентов с Т-ЛБЛ [64] и чаще всего затрагивают фосфатазный домен и С2-домен [65]. Активирующие мутации в генах *PIK3CA* и *PIK3R1*, которые кодируют каталитическую и регуляторную субъединицу PI3K, выявляются в 4% и 6% случаев Т-ЛБЛ соответственно [66].

Рецептор интерлейкина-7 и путь JAK/STAT

Интерлейкин-7 (IL-7) и его рецептор необходимы для нормального созревания, функционирования и выживания Т-клеток [67]. Рецептор к IL-7 является гетеродимером и состоит из α -субъединицы, кодируемой геном *IL7R*, и общей γ -цепи, кодируемой геном *IL2RG*. В состоянии покоя на поверхности Т-клеток располагаются α -субъединицы IL7R, связывающие тирозинкиназу класса Янус JAK1, и общие γ -цепи, связывающие JAK3 [68]. При взаимодействии IL-7 с α -субъединицей происходит изменение ее конформации, способствующее образованию комплекса с общей γ -цепью, при этом внутриклеточные домены с Янус-киназами сближаются и происходит их перекрестное фосфорилирование, ведущее к повышению киназной активности. Затем происходит фосфорилирование IL7R α по остатку тирозина – это создает сайт связывания с белком STAT5B, после чего он также фосфорилируется Янус-киназами, димеризуется и транслоцируется в ядро, где взаимодействует с промоторными участками целевых генов. При этом экспрессия антиапоптотических белков Bcl-2 и Mcl-1 повышается, а экспрессия проапоптотических белков Bax, Bad и Bim снижается, что ведет к повышению выживания клеток [69]. Активирующие мутации в генах *IL7R*, *JAK1* и *JAK3* были выявлены в 8%, 14% и 15% случаев Т-ЛБЛ соответственно [70]. Большая часть мутаций *IL7R* приводит к появлению непарного цистеина в околомембранном участке, который обеспечивает гомодимеризацию IL7R α через образование дисульфидной связи и лиганд-независимую активацию [71]. Описаны и другие мутации, вызывающие гомодимеризацию и лиганд-независимую активацию IL7R α [72] или не влияющие на димеризацию, но повышающие чувствительность к IL-7 [73].

Эпигенетический регулятор PHF6

Ген *PHF6* кодирует белок с гомеодоменом растений 6, который выполняет функцию эпигенетического регулятора [74]. Он участвует в поддержании

структуры хроматина [75], модификации гистонов [76], репарации [77], взаимодействует с компонентами хроматин-ремоделирующего комплекса с гистондеацетилазной активностью NuRD [78], может напрямую связывать двуцепочечную ДНК *in vitro* [79]. Кроме того, PHF6 связывается с ядрышковым белком UBF, подавляя транскрипцию рибосомальных РНК [80]. Мутации в гене *PHF6* выявляются у 25% пациентов с Т-ЛБЛ [70] и чаще всего представляют собой нонсенс-мутации и сдвиги рамки считывания, ведущие к полной утрате экспрессии этого белка [81], также выявляются миссенс-мутации, преимущественно затрагивающие домен PHD2 [82]. В настоящее время считается, что сами по себе мутации в гене *PHF6* не могут вызвать злокачественную трансформацию клеток, однако могут значительно ускорить этот процесс при наличии других генетических нарушений. К таким нарушениям относятся активирующие мутации *NOTCH1* [83], мутации *WT1* [84] и избыточная экспрессия генов *HOX11L1*, *TLX1* и *TLX3* [85]. Усиление пролиферации клеток при утрате функции PHF6 связывают с повышением доступности хроматина в промоторных областях проонкогенов, являющихся мишенью транскрипционного фактора с-Мус, что приводит к повышению их экспрессии [86].

Взаимодействия сигнальных путей

Известно, что при активации пути Notch также происходит повышение активности пути PI3K/Akt [87]. Механизм этого явления связан с тем, что репрессор транскрипции HES1, экспрессия которого повышается под влиянием Notch, связывается с промоторным участком гена *PTEN*, тем самым снижая его транскрипцию [88]. Поскольку продукт этого гена является негативным регулятором пути PI3K/Akt, при снижении его экспрессии активность этого пути увеличивается. С другой стороны, с-Мус тоже связывается с промоторной областью гена *PTEN* и повышает уровень его экспрессии, однако это влияние незначительно и полностью перекрывается подавлением транскрипции под действием HES1.

Также описаны сложные взаимодействия пути Notch1 с сигнальным путем пре-Т-клеточного рецептора. Notch1 напрямую повышает экспрессию гена, кодирующего α -цепь пре-Т-клеточного рецептора [34]. Кроме того, эти 2 пути активируют некоторые общие мишени, к которым относятся киназы LCK, Akt и IKK, транскрипционные факторы Мус, NF- κ B и NFAT, а также циклин D1 [87, 89–92]. Было показано, что у мышей с нарушенной передачей сигнала от пре-Т-клеточного рецептора повышенная экспрессия активированной формы Notch1 не приводит к развитию лейкоза или лимфомы, тогда как при интактной передаче сигнала от пре-Т-клеточного рецептора в подобном эксперименте разви-

вается Т-клеточный лейкоз [93]. Однако имеются данные, согласно которым активация пути Т-клеточного рецептора приводит к снижению экспрессии компонентов пути Notch, так что между этими путями существуют еще и негативные взаимодействия [94].

Рецептор IL-7 способен активировать не только путь JAK/STAT, но и путь PI3K/Akt [95]. Это происходит благодаря связыванию регуляторной субъединицы PI3K с остатком фосфотирозина во внутриклеточном участке IL7R α . Было показано, что путь JAK/STAT повышает выживание клеток, но не пролиферацию, а для усиления пролиферации необходима активация пути PI3K/Akt.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цитогенетические и молекулярно-генетические находки в Т-ОЛЛ и Т-ЛБЛ подтверждают гипотезу о том, что это 2 биологически сходных заболевания. В настоящем обзоре обобщены и систематизированы накопленные данные, касающиеся хромосомных aberrаций, мутаций в генах и сигнальных путей, которые вовлечены в патогенез Т-ЛБЛ. Многие из них достаточно тесно связаны с внутриклеточными процессами, происходящими при нормальном развитии и созревании Т-клеток и имеют прогностическое значение. При этом ввиду отсутствия крупных исследований на уровне полного генома вследствие ограниченности материала и редкости Т-ЛБЛ по сравнению с Т-ОЛЛ большинство знаний о молекулярном патогенезе данного типа лимфом перенесено из исследований ОЛЛ. Однако уже установлены

некоторые биологические различия между Т-ЛБЛ и Т-ОЛЛ. Так, например, установлена связь между развитием Т-ЛБЛ и синдромами дефицита репарации ДНК: синдромы атаксии-телеангиэктазии (Луи-Бар), Ниймеген, CMMRD [96]. Также блок дифференцировки при Т-ЛБЛ чаще, чем при Т-ОЛЛ происходит на стадии зрелого тимоцита. Частота некоторых генетических событий тоже может отличаться. Например, делеция 6q чаще обнаруживается при Т-ЛБЛ, чем при Т-ОЛЛ [14]. Более того, бласты при ЛБЛ в отличие от лейкоза находятся в тесном контакте со стромальным микроокружением, что, вероятно, требует других генетических или эпигенетических событий. Дальнейшее изучение патогенетических механизмов развития Т-ЛБЛ открывает перспективы к созданию новых подходов в терапии и к улучшению результатов лечения, что является особенно актуальным в контексте развития рефрактерного течения и рецидивов этого заболевания, при которых прогноз пока что остается крайне неблагоприятным.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Dneprovskii V.R. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-3896-6612>

Fedorova A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4699-1730>

Volchikov E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2574-1636>

Abramov D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3664-2876>

Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Литература

- Alaggio R., Amador C., Anagnostopoulos I., Attygalle A.D., Araujo I.B. de O., Berti E., et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* 2022; 36 (7): 1720–48. DOI: 10.1038/S41375-022-01620-2
- Bassan R., Maino E., Cortelazzo S. Lymphoblastic lymphoma: An updated review on biology, diagnosis, and treatment. *Eur J Haematol* 2016; 96 (5): 447–60. DOI: 10.1111/EJH.12722
- Burkhardt B., Zimmermann M., Oschlies I., Niggli F., Mann G., Parwaresch R., et al. The impact of age and gender on biology, clinical features and treatment outcome of non-Hodgkin lymphoma in childhood and adolescence. *Br J Haematol* 2005; 131 (1): 39–49. DOI: 10.1111/J.1365-2141.2005.05735.X
- van der Zwet J.C.G., Cordo' V., Canté-Barrett K., Meijerink J.P.P. Multi-omic approaches to improve outcome for T-cell acute lymphoblastic leukemia patients. *Adv Biol Regul* 2019; 74: 100647. DOI: 10.1016/J.JBIOR.2019.100647
- Kroeze E., Loeffen J.L.C., Poort V.M., Meijerink J.P.P. T-cell lymphoblastic lymphoma and leukemia: different diseases from a common premalignant progenitor? *Blood Adv* 2020; 4 (14): 3466–73. DOI: 10.1182/BLOODADVANCES.2020001822
- Tasian S.K., Loh M.L., Hunger S.P. Childhood acute lymphoblastic leukemia: Integrating genomics into therapy. *Cancer* 2015; 121 (20): 3577–90. DOI: 10.1002/CNCR.29573
- van Vlierberghe P., Ferrando A. The molecular basis of T cell acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* 2012; 122 (10): 3398–406. DOI: 10.1172/JCI61269
- Soulier J., Clappier E., Cayuela J.M., Regnault A., García-Peydró M., Dombret H., et al. HOXA genes are included in genetic and biologic networks defining human acute T-cell leukemia (T-ALL). *Blood* 2005; 106 (1): 274–86. DOI: 10.1182/BLOOD-2004-10-3900
- Sanda T., Leong W.Z. TAL1 as a master oncogenic transcription factor in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol* 2017; 53: 7–15. DOI: 10.1016/J.EXPHEM.2017.06.001
- Kraszewska M.D., Dawidowska M., Szczepański T., Witt M. T-cell acute lymphoblastic leukaemia: recent molecular biology findings. *Br J Haematol* 2012; 156 (3): 303–15. DOI: 10.1111/J.1365-2141.2011.08957.X
- Bardelli V., Arniani S., Pierini V., Di Giacomo D., Pierini T., Gorello P. et

- al. T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: Biomarkers and Their Clinical Usefulness. *Genes (Basel)* 2021; 12 (8): 1118. DOI: 10.3390/GENES12081118
12. Bonn B.R., Rohde M., Zimmermann M., Krieger D., Oschlies I., Niggli F., et al. Incidence and prognostic relevance of genetic variations in T-cell lymphoblastic lymphoma in childhood and adolescence. *Blood* 2013; 121 (16): 3153–60. DOI: 10.1182/BLOOD-2012-12-474148
 13. Sinclair P.B., Sorour A., Martineau M., Harrison C.J., Mitchell W.A., O'Neill E., et al. A fluorescence in situ hybridization map of 6q deletions in acute lymphocytic leukemia: identification and analysis of a candidate tumor suppressor gene. *Cancer Res* 2004; 64 (12): 4089–98. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-1871
 14. Burkhardt B., Moericke A., Klapper W., Greene F., Salzburg J., Damm-Welk C., et al. Pediatric precursor T lymphoblastic leukemia and lymphoblastic lymphoma: Differences in the common regions with loss of heterozygosity at chromosome 6q and their prognostic impact. *Leuk Lymphoma* 2008; 49 (3): 451–61. DOI: 10.1080/10428190701824551
 15. Carrasco Salas P., Fernández L., Vela M., Bueno D., González B., Valentín J., et al. The role of CDKN2A/B deletions in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Hematol Oncol* 2016; 33 (7–8): 415–22. DOI: 10.1080/08880018.2016.1251518
 16. Artavanis-Tsakonas S., Rand M.D., Lake R.J. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 1999; 284 (5415): 770–6. DOI: 10.1126/SCIENCE.284.5415.770
 17. Deftos M.L., Bevan M.J. Notch signaling in T cell development. *Curr Opin Immunol* 2000; 12 (2): 166–72. DOI: 10.1016/S0952-7915(99)00067-9
 18. Sanchez-Irizarry C., Carpenter A.C., Weng A.P., Pear W.S., Aster J.C., Blacklow S.C. Notch Subunit Heterodimerization and Prevention of Ligand-Independent Proteolytic Activation Depend, Respectively, on a Novel Domain and the LNR Repeats. *Mol Cell Biol* 2004; 24 (21): 9265. DOI: 10.1128/MCB.24.21.9265-9273.2004
 19. Kopan R., Ilagan M.X.G. The Canonical Notch Signaling Pathway: Unfolding the Activation Mechanism. *Cell* 2009; 137 (2): 216. DOI: 10.1016/J.CELL.2009.03.045
 20. Bettenhausen B., Hrabe de Angelis M., Simon D., Guenet J.L., Gossler A. Transient and restricted expression during mouse embryogenesis of Dll1, a murine gene closely related to Drosophila Delta. *Development* 1995; 121 (8): 2407–18. DOI: 10.1242/DEV.121.8.2407
 21. Dunwoodie S.L., Henrique D., Harrison S.M., Beddington R.S.P. Mouse Dll3: a novel divergent Delta gene which may complement the function of other Delta homologues during early pattern formation in the mouse embryo. *Development* 1997; 124 (16): 3065–76. DOI: 10.1242/DEV.124.16.3065
 22. Shutter J.R., Scully S., Fan W., Richards W.G., Kitajewski J., Deblandre G.A. et al. Dll4, a novel Notch ligand expressed in arterial endothelium. *Genes Dev* 2000; 14 (11): 1313. DOI: 10.1101/gad.14.11.1313
 23. Lindsell C.E., Shawber C.J., Boulter J., Weinmaster G. Jagged: a mammalian ligand that activates Notch1. *Cell* 1995; 80 (6): 909–17. DOI: 10.1016/0092-8674(95)90294-5
 24. Shawber C., Boulter J., Lindsell C.E., Weinmaster G. Jagged2: a serrate-like gene expressed during rat embryogenesis. *Dev Biol* 1996; 180 (1): 370–6. DOI: 10.1006/DBIO.1996.0310
 25. Nam Y., Sliz P., Song L., Aster J.C., Blacklow S.C. Structural basis for cooperativity in recruitment of MAML coactivators to Notch transcription complexes. *Cell* 2006; 124 (5): 973–83. DOI: 10.1016/J.CELL.2005.12.037
 26. Wu L., Sun T., Kobayashi K., Gao P., Griffin J.D. Identification of a family of mastermind-like transcriptional coactivators for mammalian notch receptors. *Mol Cell Biol* 2002; 22 (21): 7688–00. DOI: 10.1128/MCB.22.21.7688-7700.2002
 27. Kurooka H., Honjo T. Functional interaction between the mouse notch1 intracellular region and histone acetyltransferases PCAF and GCN5. *J Biol Chem* 2000; 275 (22): 17211–20. DOI: 10.1074/JBC.M000909200
 28. Jarriault S., Brou C., Logeat F., Schroeter E.H., Kopan R., Israel A. Signalling downstream of activated mammalian Notch. *Nature* 1995; 377 (6547): 355–8. DOI: 10.1038/377355A0
 29. Weng A.P., Millholland J.M., Yashiro-Ohtani Y., Arcangeli M.L., Lau A., Wai C., et al. c-Myc is an important direct target of Notch1 in T-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Genes Dev* 2006; 20 (15): 2096–109. DOI: 10.1101/GAD.1450406
 30. Rangarajan A., Talora C., Okuyama R., Nicolas M., Mammucari C., Oh H. et al. Notch signaling is a direct determinant of keratinocyte growth arrest and entry into differentiation. *EMBO J* 2001; 20 (13): 3427–36. DOI: 10.1093/EMBOJ/20.13.3427
 31. Ronchini C., Capobianco A.J. Induction of Cyclin D1 Transcription and CDK2 Activity by Notch1: Implication for Cell Cycle Disruption in Transformation by Notch1. *Mol Cell Biol* 2001; 21 (17): 5925. DOI: 10.1128/MCB.21.17.5925-5934.2001
 32. Adler S.H., Chiffolleau E., Xu L., Dalton N.M., Burg J.M., Wells A.D., et al. Notch signaling augments T cell responsiveness by enhancing CD25 expression. *J Immunol* 2003; 171 (6): 2896–903. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.171.6.2896
 33. Fang T.C., Yashiro-Ohtani Y., Del Bianco C., Knoblock D.M., Blacklow S.C., Pear W.S. Notch Directly Regulates Gata3 Expression during T Helper 2 Cell Differentiation. *Immunity* 2007; 27 (1): 100. DOI: 10.1016/J.IMMUNI.2007.04.018
 34. Reizis B., Leder P. Direct induction of T lymphocyte-specific gene expression by the mammalian Notch signaling pathway. *Genes Dev* 2002; 16 (3): 295–300. DOI: 10.1101/GAD.960702
 35. Malecki M.J., Sanchez-Irizarry C., Mitchell J.L., Histen G., Xu M.L., Aster J.C., et al. Leukemia-Associated Mutations within the NOTCH1 Heterodimerization Domain Fall into at Least Two Distinct Mechanistic Classes. *Mol Cell Biol* 2006; 26 (12): 4642. DOI: 10.1128/MCB.01655-05
 36. Weng A.P., Ferrando A.A., Lee W., Morris IV J.P., Silverman L.B., Sanchez-Irizarry C., et al. Activating mutations of NOTCH1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia. *Science* 2004; 306 (5694): 269–71. DOI: 10.1126/SCIENCE.1102160
 37. Welcker M., Clurman B.E. FBW7 ubiquitin ligase: a tumour suppressor at the crossroads of cell division, growth and differentiation. *Nat Rev Cancer* 2008; 8 (2): 83–93. DOI: 10.1038/NRC2290
 38. Chang B., Partha S., Hofmann K., Lei M., Goebel M., Harper J.W., et al. SKP1 connects cell cycle regulators to the ubiquitin proteolysis machinery through a novel motif, the F-box. *Cell* 1996; 86 (2): 263–74. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80098-7
 39. Hao B., Oehlmann S., Sowa M.E., Harper J.W., Pavletich N.P. Structure of a Fbw7-Skp1-cyclin E complex: multisite-phosphorylated substrate recognition by SCF ubiquitin ligases. *Mol Cell* 2007; 26 (1): 131–43. DOI: 10.1016/J.MOLCEL.2007.02.022

40. Park M.J., Taki T., Oda M., Watanabe T., Yumura-Yagi K., Kobayashi R., et al. *FBXW7* and *NOTCH1* mutations in childhood T cell acute lymphoblastic leukaemia and T cell non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2009; 145 (2): 198–206. DOI: 10.1111/J.1365-2141.2009.07607.X
41. Öberg C., Li J., Pauley A., Wolf E., Gurney M., Lendahl U. The Notch intracellular domain is ubiquitinated and negatively regulated by the mammalian Sel-10 homolog. *J Biol Chem* 2001; 276 (38): 35847–53. DOI: 10.1074/JBC.M103992200
42. Yada M., Hatakeyama S., Kamura T., Nishiyama M., Tsunematsu R., Imaki H., et al. Phosphorylation-dependent degradation of c-Myc is mediated by the F-box protein Fbw7. *EMBO J* 2004; 23 (10): 2116–25. DOI: 10.1038/SJ.EMBOJ.7600217
43. Kanei-Ishii C., Nomura T., Takagi T., Watanabe N., Nakayama K.I., Ishii S. Fbxw7 Acts as an E3 Ubiquitin Ligase That Targets c-Myb for Nemo-like Kinase (NLK)-induced Degradation. *J Biol Chem* 2008; 283 (45): 30540. DOI: 10.1074/JBC.M804340200
44. Wei W., Jin J., Schlisio S., Harper J.W., Kaelin W.G. The v-Jun point mutation allows c-Jun to escape GSK3-dependent recognition and destruction by the Fbw7 ubiquitin ligase. *Cancer Cell* 2005; 8 (1): 25–33. DOI: 10.1016/J.CCR.2005.06.005
45. Mao J.H., Kim I.J., Wu D., Climent J., Hio C.K., DelRosario R., et al. *FBXW7* Targets mTOR for Degradation and Genetically Cooperates with PTEN in Tumor Suppression. *Science* 2008; 321 (5895): 1499. DOI: 10.1126/SCIENCE.1162981
46. Anand S., Penrhyn-Lowe S., Venkitaraman A.R. *AURORA-A* amplification overrides the mitotic spindle assembly checkpoint, inducing resistance to Taxol. *Cancer Cell* 2003; 3 (1): 51–62. DOI: 10.1016/S1535-6108(02)00235-0
47. Li J., Pauley A.M., Myers R.L., Shuang R., Brashler J.R., Yan R., et al. SEL-10 interacts with presenilin 1, facilitates its ubiquitination, and alters A-beta peptide production. *J Neurochem* 2002; 82 (6): 1540–8. DOI: 10.1046/J.1471-4159.2002.01105.X
48. Koepp D.M., Schaefer L.K., Ye X., Keyomarsi K., Chu C., Harper J.W., et al. Phosphorylation-dependent ubiquitination of cyclin E by the SCFFbw7 ubiquitin ligase. *Science* 2001; 294 (5540): 173–7. DOI: 10.1126/SCIENCE.1065203
49. Crusio K.M., King B., Reavie L.B., Aifantis I. The ubiquitous nature of cancer: the role of the SCFFbw7 complex in development and transformation. *Oncogene* 2010; 29 (35): 4865. DOI: 10.1038/ONC.2010.222
50. Lee Y.R., Chen M., Pandolfi P.P. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor: new modes and prospects. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018; 19 (9): 547–62. DOI: 10.1038/S41580-018-0015-0
51. Lee J.O., Yang H., Georgescu M.M., Di Cristofano A., Maehama T., Shi Y., et al. Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association. *Cell* 1999; 99 (3): 323–34. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81663-3
52. Stambolic V., Suzuki A., De la Pompa J.L., Brothers G.M., Mirtsos C., Sasaki T., et al. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. *Cell* 1998; 95 (1): 29–39. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81780-8
53. Kane L.P., Murter B. Control of T lymphocyte fate decisions by PI3K signaling. *F1000Research* 2020; 9: F1000. DOI: 10.12688/F1000RESEARCH.26928.1
54. Boomer J.S., Green J.M. An Enigmatic Tail of CD28 Signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2 (8): a002436. DOI: 10.1101/CSHPER-SPECT.A002436
55. Tran H., Brunet A., Griffith E.C., Greenberg M.E. The many forks in FOXO's road. *Sci STKE* 2003; 2003 (172): RE5. DOI: 10.1126/STKE.2003.172.RE5
56. Dijkers P.F., Birkenkamp K.U., Lam E.W.F., Shaun B Thomas N., Lammers J.W.J., Koenderman L., et al. FKHR-L1 can act as a critical effector of cell death induced by cytokine withdrawal: protein kinase B-enhanced cell survival through maintenance of mitochondrial integrity. *J Cell Biol* 2002; 156 (3): 531–42. DOI: 10.1083/JCB.200108084
57. Shin I., Yakes F.M., Rojo F., Shin N.-Y., Bakin A.V., Baselga J., et al. PKB/Akt mediates cell-cycle progression by phosphorylation of p27(Kip1) at threonine 157 and modulation of its cellular localization. *Nat Med* 2002; 8 (10): 1145–52. DOI: 10.1038/NM759
58. Datta S.R., Dudek H., Xu T., Masters S., Haian F., Gotoh Y., et al. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell* 1997; 91 (2): 231–41. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80405-5
59. Cross D.A.E., Alessi D.R., Cohen P., Andjelkovich M., Hemmings B.A. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature* 1995; 378 (6559): 785–9. DOI: 10.1038/378785A0
60. Diehl J.A., Cheng M., Roussel M.F., Sherr C.J. Glycogen synthase kinase-3beta regulates cyclin D1 proteolysis and subcellular localization. *Genes Dev* 1998; 12 (22): 3499–511. DOI: 10.1101/GAD.12.22.3499
61. Yeh E., Cunningham M., Arnold H., Chasse D., Monteith T., Ivaldi G., et al. A signalling pathway controlling c-Myc degradation that impacts oncogenic transformation of human cells. *Nat Cell Biol* 2004; 6 (4): 308–18. DOI: 10.1038/NCB1110
62. Mayo L.D., Donner D.B. A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway promotes translocation of Mdm2 from the cytoplasm to the nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98 (20): 11598–603. DOI: 10.1073/PNAS.181181198
63. Huang J., Manning B.D. A complex interplay between Akt, TSC2 and the two mTOR complexes. *Biochem Soc Trans* 2009; 37 (Pt 1): 217–22. DOI: 10.1042/BST0370217
64. Khanam T., Sandmann S., Seggewiss J., Ruether C., Zimmermann M., Norvil A.B., et al. Integrative genomic analysis of pediatric T-cell lymphoblastic lymphoma reveals candidates of clinical significance. *Blood* 2021; 137 (17): 2347–59. DOI: 10.1182/BLOOD.2020005381
65. Zuurbier L., Petricoin E.F., Vuerhard M.J., Calvert V., Kooi C., Buijs-Gladdines J.G.C.A.M., et al. The significance of PTEN and AKT aberrations in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2012; 97 (9): 1405. DOI: 10.3324/HAEMATOL.2011.059030
66. Balbach S.T., Makarova O., Bonn B.R., Zimmermann M., Oschlies I., Klappper W., et al. Proposal of a genetic classifier for risk group stratification in pediatric T-cell lymphoblastic lymphoma reveals differences from adult T-cell lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2016; 30 (4): 970–3. DOI: 10.1038/LEU.2015.203
67. Peschon J.J., Morrissey P.J., Grabstein K.H., Ramsdell F.J., Maraskovsky E., Gliniak B.C., et al. Early lymphocyte expansion is severely impaired in interleukin 7 receptor-deficient mice. *J Exp Med* 1994; 180 (5): 1955–60. DOI: 10.1084/JEM.180.5.1955
68. Chen D., Tang T.X., Deng H., Yang X.P., Tang Z.H. Interleukin-7 Biology and Its Effects on Immune

- Cells: Mediator of Generation, Differentiation, Survival, and Homeostasis. *Front Immunol* 2021; 12: 747324. DOI: 10.3389/FIMMU.2021.747324
69. Wang C., Kong L., Kim S., Lee S., Oh S., Jo S., et al. The Role of IL-7 and IL-7R in Cancer Pathophysiology and Immunotherapy. *Int J Mol Sci* 2022; 23 (18): 10412. DOI: 10.3390/IJMS231810412
 70. Li Z., Song Y., Zhang Y., Li C., Wang Y., Xue W., et al. Genomic and outcome analysis of adult T-cell lymphoblastic lymphoma. *Haematologica* 2020; 105 (3): e107. DOI: 10.3324/HAEMATOL.2019.220863
 71. Zenatti P.P., Ribeiro D., Li W., Zuurbier L., Silva M.C., Paganin M., et al. Oncogenic IL7R gain-of-function mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 2011; 43 (10): 932–41. DOI: 10.1038/NG.924
 72. Shochat C., Tal N., Gryshkova V., Birger Y., Bandapalli O.R., Cazzaniga G., et al. Novel activating mutations lacking cysteine in type I cytokine receptors in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014; 124 (1): 106–10. DOI: 10.1182/BLOOD-2013-10-529685
 73. Canté-Barrett K., Spijkers-Hagelstein J.A.P., Buijs-Gladdines J.G.C.A.M., Uitdehaag J.C.M., Smits W.K., Van Der Zwet J., et al. MEK and PI3K-AKT inhibitors synergistically block activated IL7 receptor signaling in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2016; 30 (9): 1832–43. DOI: 10.1038/LEU.2016.83
 74. Eisa Y.A., Guo Y., Yang F.C. The Role of PHF6 in Hematopoiesis and Hematologic Malignancies. *Stem cell Rev reports* 2023; 19 (1): 67–75. DOI: 10.1007/S12015-022-10447-4
 75. Feliciano Y.M.S., Bartlebaugh J.M.E., Liu Y., Rivera F.J.S., Bhutkar A., Weintraub A.S., et al. PHF6 regulates phenotypic plasticity through chromatin organization within lineage-specific genes. *Genes Dev* 2017; 31 (10): 973–89. DOI: 10.1101/GAD.295857.117
 76. Oh S., Boo K., Kim J., Baek S.A., Jeon Y., You J., et al. The chromatin-binding protein PHF6 functions as an E3 ubiquitin ligase of H2BK120 via H2BK12Ac recognition for activation of trophectodermal genes. *Nucleic Acids Res* 2020; 48 (16): 9037–52. DOI: 10.1093/NAR/GKAA626
 77. Warmerdam D.O., Alonso-de Vega I., Wiegant W.W., van den Broek B., Rother M.B., Wolthuis R.M., et al. PHF6 promotes non-homologous end joining and G2 checkpoint recovery. *EMBO Rep* 2020; 21 (1): e48460. DOI: 10.15252/EMBR.201948460
 78. Todd M.A.M., Picketts D.J. PHF6 interacts with the nucleosome remodeling and deacetylation (NuRD) complex. *J Proteome Res* 2012; 11 (8): 4326–37. DOI: 10.1021/PR3004369
 79. Liu Z., Li F., Ruan K., Zhang J., Mei Y., Wu J., et al. Structural and functional insights into the human Börjeson-Forssman-Lehmann syndrome-associated protein PHF6. *J Biol Chem* 2014; 289 (14): 10069–83. DOI: 10.1074/JBC.M113.535351
 80. Wang J., Leung J.W.C., Gong Z., Feng L., Shi X., Chen J. PHF6 regulates cell cycle progression by suppressing ribosomal RNA synthesis. *J Biol Chem* 2013; 288 (5): 3174–83. DOI: 10.1074/JBC.M112.414839
 81. van Vlierberghe P., Palomero T., Khiabani H., Van Der Meulen J., Castillo M., Van Roy N., et al. PHF6 mutations in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 2010; 42 (4): 338–42. DOI: 10.1038/NG.542
 82. Mori T., Nagata Y., Makishima H., Sanada M., Shiozawa Y., Kon A., et al. Somatic PHF6 mutations in 1760 cases with various myeloid neoplasms. *Leukemia* 2016; 30 (11): 2270–3. DOI: 10.1038/LEU.2016.212
 83. Miyagi S., Sroczynska P., Kato Y., Nakajima-Takagi Y., Oshima M., Rizq O., et al. The chromatin-binding protein Phf6 restricts the self-renewal of hematopoietic stem cells. *Blood* 2019; 133 (23): 2495–506. DOI: 10.1182/BLOOD.2019000468
 84. Yeh T.C., Liang D.C., Liu H.C., Jaing T.H., Chen S.H., Hou J.Y., et al. Clinical and biological relevance of genetic alterations in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia in Taiwan. *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66 (1): e27496. DOI: 10.1002/PBC.27496
 85. Liu Y., Easton J., Shao Y., Maciaszek J., Wang Z., Wilkinson M.R., et al. The genomic landscape of pediatric and young adult T-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 2017; 49 (8): 1211–8. DOI: 10.1038/NG.3909
 86. Wendorff A.A., Quinn S.A., Rashkovan M., Madubata C.J., Ambesi-Impombato A., Litzow M.R., et al. Phf6 Loss Enhances HSC Self-Renewal Driving Tumor Initiation and Leukemia Stem Cell Activity in T-ALL. *Cancer Discov* 2019; 9 (3): 436–51. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-1005
 87. Ciofani M., Zúñiga-Pflücker J.C. Notch promotes survival of pre-T cells at the beta-selection checkpoint by regulating cellular metabolism. *Nat Immunol* 2005; 6 (9): 881–8. DOI: 10.1038/NI1234
 88. Palomero T., Dominguez M., Ferrando A.A. The role of the PTEN/AKT Pathway in NOTCH1-induced leukemia. *Cell Cycle* 2008; 7 (8): 965. DOI: 10.4161/CC.7.8.5753
 89. Aifantis I., Gounari F., Scorrano L., Borowski C., Von Boehmer H. Constitutive pre-TCR signaling promotes differentiation through Ca²⁺ mobilization and activation of NF-kappaB and NFAT. *Nat Immunol* 2001; 2 (5): 403–9. DOI: 10.1038/87704
 90. Medyouf H., Alcalde H., Berthier C., Guillemin M.C., Dos Santos N.R., Janin A., et al. Targeting calcineurin activation as a therapeutic strategy for T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Med* 2007; 13 (6): 736–41. DOI: 10.1038/NM1588
 91. Sicinska E., Aifantis I., Le Cam L., Swat W., Borowski C., Yu Q., et al. Requirement for cyclin D3 in lymphocyte development and T cell leukemias. *Cancer Cell* 2003; 4 (6): 451–61. DOI: 10.1016/S1535-6108(03)00301-5
 92. Vilimas T., Mascarenhas J., Palomero T., Mandal M., Buonamici S., Meng F., et al. Targeting the NF-kappaB signaling pathway in Notch1-induced T-cell leukemia. *Nat Med* 2007; 13 (1): 70–7. DOI: 10.1038/NM1524
 93. Allman D., Karnell F.G., Punt J.A., Bakkour S., Xu L., Myung P., et al. Separation of Notch1 Promoted Lineage Commitment and Expansion/Transformation in Developing T Cells. *J Exp Med* 2001; 194 (1): 99. DOI: 10.1084/JEM.194.1.99
 94. Aifantis I., Raetz E., Buonamici S. Molecular pathogenesis of T-cell leukaemia and lymphoma. *Nat Rev Immunol* 2008; 8 (5): 380–90. DOI: 10.1038/NRI2304
 95. Swainson L., Kinet S., Mongellaz C., Sourisseau M., Henriques T., Taylor N. IL-7-induced proliferation of recent thymic emigrants requires activation of the PI3K pathway. *Blood* 2007; 109 (3): 1034–42. DOI: 10.1182/BLOOD-2006-06-027912
 96. Ripperger T., Schlegelberger B. Acute lymphoblastic leukemia and lymphoma in the context of constitutional mismatch repair deficiency syndrome. *Eur J Med Genet* 2016; 59 (3): 133–42. DOI: 10.1016/j.ejmg.2015.12.014.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 29.01.2024
Принята к печати 29.02.2024



EDN:QZKGMJ

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: abramovd_s@bk.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-180-191

Современные представления об этиологии и патогенезе ALK-позитивной анапластической крупноклеточной лимфомы

Д.С. Абрамов¹, А.С. Федорова¹, Е.В. Волчков^{1,2}, Н.В. Мякова¹, Д.М. Коновалов^{1,3}

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

²Научно-исследовательский институт молекулярной и клеточной медицины ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

ALK-позитивная анапластическая крупноклеточная лимфома представляет собой зрелоклеточную Т-клеточную лимфому, характеризующуюся транслокациями с вовлечением гена, кодирующего рецепторную тирозинкиназу ALK. Одной из особенностей заболевания является его встречаемость почти исключительно среди детей и молодых взрослых. Биология ALK-позитивной анапластической лимфомы на сегодняшний день изучена достаточно хорошо, причем исследования последних лет уделяют большое внимание гистогенезу неоплазии. Настоящий обзор посвящен анализу современных мировых данных об этиологии и патогенезе данного заболевания.

Ключевые слова: ALK-позитивная анапластическая крупноклеточная лимфома, неходжкинские лимфомы, сигнальные пути

Абрамов Д.С. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 180–91. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-180-191

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 29.01.2024

Accepted 29.02.2024

Current views on the etiology and pathogenesis of ALK-positive anaplastic large cell lymphoma

D.S. Abramov¹, A.S. Fedorova¹, E.V. Volchkov^{1,2}, N.V. Myakova¹, D.M. Konovalov^{1,3}

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

²Research Institute of Molecular and Cellular Medicine of the Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

³Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

ALK-positive anaplastic large cell lymphoma is a mature T-cell lymphoma characterized by translocations that involve the ALK receptor tyrosine kinase coding gene. This illness is known to almost exclusively affect children and young adults. The biology of ALK-positive anaplastic large cell lymphoma is fairly well researched today, with recent studies focusing on the histogenesis of this neoplasm. In this review, we analyze the existing world literature data on the etiology and pathogenesis of this disease.

Key words: ALK-positive anaplastic large cell lymphoma, non-Hodgkin lymphomas, signal pathways

Abramov D.S., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 180–91. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-180-191

Correspondence:
Dmitry S. Abramov, MD,
a pathologist at the Pathology Department
of the Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology of Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
117997, Moscow, Russia
E-mail: abramovd_s@bk.ru

АLK-позитивная анапластическая крупноклеточная лимфома (ALK⁺ АККЛ) – это относительно молодая нозологическая форма, представляющая собой опухоль иммунной системы из зрелых Т-лимфоцитов. Данная неоплазия крайне редко встречается у людей среднего и пожилого возраста и поистине может считаться болезнью детей и молодых взрослых с пиком заболеваемости в подростковом возрасте [1]. При этом в педиатрической популяции ALK⁺ АККЛ составляет до 1/5 всех лимфом [2].

Название заболевания отражает aberrантную экспрессию ALK-антигена, вызванную драйверной перестройкой одноименного гена, и морфологические особенности клеток: полигональную форму, крупные размеры, отсутствие тканевой структуры [3]. В настоящий момент различают 2 морфологи-

ческие группы ALK⁺ АККЛ: так называемые общий и редкий морфологические типы. Последний, в свою очередь, подразделяется на мелкоклеточный, лимфогистиоцитарный и смешанный варианты [3, 4] (рисунки 1). Данное разделение имеет не только дефинитивный характер – типы ALK⁺ АККЛ имеют различное клиническое течение и прогноз [5]. Подходы к стратификации риска и лечению пациентов с ALK⁺ АККЛ за последние 30 лет претерпели изменения от вариаций протоколов для В-клеточных лимфом до специализированных протоколов с применением таргетных препаратов [6, 7].

В данной статье мы попытались осветить известные на сегодняшний день данные о патогенетических механизмах возникновения и развития ALK⁺ АККЛ.

Этиология

Возникновение ALK⁺ АККЛ обусловлено изменениями гена *ALK*, кодирующего рецепторную тирозинкиназу ALK, относящуюся к суперсемейству инсулинового рецептора [8]. У человека данный ген имеет локализацию 2p23 [9]. В норме ALK экспрессируется в нейронах в процессе эмбриогенеза и, по всей видимости, играет роль в развитии центральной нервной системы. В головном мозге взрослого человека ALK демонстрирует только фокальную экспрессию [10].

До 85% (70–85%) ALK⁺ АККЛ ассоциированы с реципрокной транслокацией t(2;5)(p23;q35), которая приводит к слиянию генов, кодирующих белки ALK (киназа анапластической лимфомы) и NPM (нуклеофосмин) [9, 11]. В результате данной транслокации участок генома, кодирующий внутрицитоплазматическую часть ALK, сливается с участком, кодирующим N-конец NPM [12]. Разрывы в гене *ALK*, как правило, возникают в интроне, расположенном между экзонами 16 и 17 (при этом внутрицитоплазматический домен кодируется экзонами 17–26) [13].

Белок NPM представляет собой шаперон, задействованный в транспорте прерибосомальных частиц через ядерную мембрану, репарации ДНК, регуляции транскрипции, делении клеток, поддержании стабильности генома. NPM на своем N-конце имеет домен

димеризации, который в химерном белке NPM::ALK обеспечивает аутофосфорилирование и активацию киназы ALK, что способствует связыванию с белками-адаптерами и запускает дальнейшие внутриклеточные события [11, 14].

Ген *NPM1* является не единственным возможным партнером *ALK* в ALK⁺ АККЛ. В рамках данной нозологии также возможно слияние *ALK* с *ALO17* [15], *TFG* (варианты short, long, extra long, в зависимости от задействованного фрагмента 5'-конца *TFG*) [16], *TPM3*, *TPM4* [17, 18], *MYH9* [19], *CLTC* [20], *ATIC* [21], *MSN* [22]. Ключевым последствием образования химерных транскриптов с участием ALK являются димеризация и фосфорилирование киназы, что приводит к активации различных молекулярных каскадов. Варианты химерных генов, встречающихся в АККЛ, и частота их встречаемости приведены в таблице.

Интересно, что химерные гены *NPM1::ALK* и *ATIC::ALK* в форме циркулирующей ДНК были обнаружены в крови здоровых людей, не страдающих онкологическими заболеваниями [25, 26], это позволяет предположить, что онкогенная форма ALK, приобретающая aberrantную активность в составе химерного гена, является необходимым, но недостаточным условием развития онкологического процесса (в пользу этого свидетельствует тот факт, что изолированная aberrantная активность ALK приводит к остановке

Рисунок 1

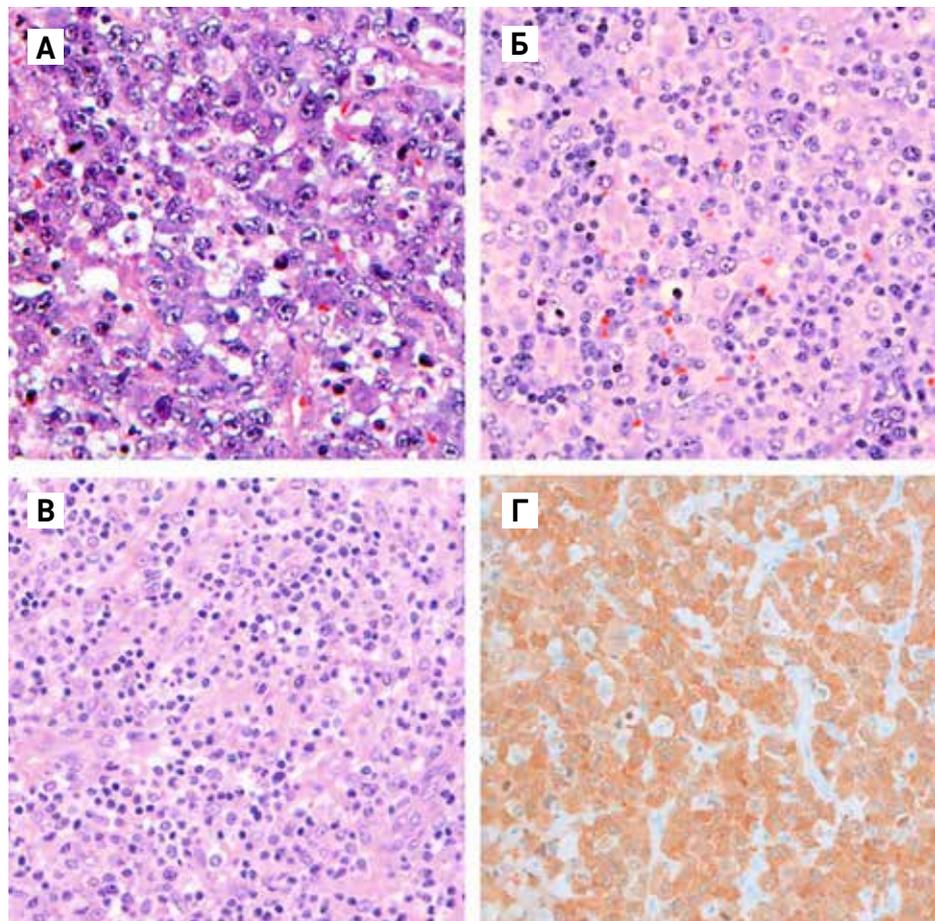
Морфология и некоторые черты иммунофенотипа ALK⁺ АККЛ

А – общий морфологический тип, окраска гематоксилином и эозином, × 40; Б – лимфогистиоцитарный вариант редкого морфологического типа, окраска гематоксилином и эозином, × 40; В – мелкоклеточный вариант редкого морфологического типа, окраска гематоксилином и эозином, × 40; Г – экспрессия ALK, × 40

Figure 1

Morphologic and some immunophenotypic features of ALK-positive anaplastic large cell lymphoma (ALK⁺ ALCL)

А – common morphological pattern, hematoxylin & eosin staining, × 40; Б – rare lymphohistiocytic morphological pattern, hematoxylin & eosin staining, × 40; В – rare small cell morphological pattern, hematoxylin & eosin staining, × 40; Г – ALK expression, × 40



Таблица

Варианты хромосомных аномалий с участием *ALK* в *ALK⁺* АККЛ [23, 24]

Table

Chromosomal abnormalities involving *ALK* in *ALK⁺* ALCL [23, 24]

Хромосомная аномалия Chromosomal abnormality	Ген-партнер Partner gene	%
t(2;5)(p23;q35)	<i>NPM1</i>	84
t(1;5)(q25;p24)	<i>TPM3</i>	13
inv(2)(p23;q35)	<i>AT1C</i>	1
t(2;3)(p23;q21)	<i>TFG</i> Xlong <i>TFG</i> Long <i>TFG</i> Short	< 1
t(2;17)(p23;q23)	<i>CLTC</i>	< 1
t(2;X)(p23;q11-12)	<i>MSN</i>	< 1
t(2;19)(p23;q13.1)	<i>TPM4</i>	< 1
t(2;22)(p23;q11.2)	<i>MYH9</i>	< 1
t(2;17)(p23;q25)	<i>ALQ17</i>	< 1

Note. *ALK⁺* ALCL – *ALK*-positive anaplastic large cell lymphoma.

клеточного цикла и клеточному старению, которые обусловлены действием таких белков-супрессоров опухолевого роста, как p16, p53 и Rb, нарушение функции которых, по всей видимости, необходимо для развития злокачественного процесса под действием *ALK* [27, 28]).

Хромосомные аномалии обнаруживаются в 58% *ALK⁺* АККЛ, наиболее распространенными являются увеличение числа копий 17q, 17q24-qter, 7p, 6q и потеря 4q13-q21, 11q14, 13q [29].

Патогенез

Наиболее полно в контексте патогенеза *ALK⁺* АККЛ изучена онкогенная роль киназы *ALK*. Показано, что под ее действием в клетках злокачественных новообразований происходят индукция их пролиферации, перестройка цитоскелета, клеточной миграции, повышение жизнеспособности клеток [11]. При этом большинство исследований было выполнено на клетках, несущих наиболее распространенную транслокацию t(2;5)(p23;q35) и экспрессирующих химерный белок NPM::ALK. Как уже было сказано, ведущую роль в приобретении *ALK* аберрантной активности играют его димеризация и трансфосфорилирование, возникающие в результате слияния с белком NPM. Как правило, другие 5'-партнеры гена *ALK* также обеспечивают активацию белка *ALK* за счет димеризации [11].

Современные исследования выделяют 3 основных сигнальных пути, активируемых в клетках *ALK⁺* АККЛ: Ras/ERK, JAK3/STAT3, PI3K/Akt. При этом усиление пролиферации клеток связано преимущественно с активностью пути Ras/ERK, а изменение фенотипа клеток и их выживание – с путями JAK3/STAT3 и PI3K/Akt. Кроме того, показано взаимодействие NPM::ALK с PLCγ [11].

В рамках каскада Ras/ERK NPM::ALK взаимодействует с белками-адаптерами, имеющими

SH2-домен или домен связывания фосфотиروزина. К этим белкам относятся IRS1, SRC и SHC. Далее при участии IRS1 и SRC происходит активация сигнального каскада Ras/Raf/MEK/ERK. Кроме того, белковый комплекс SHP2-GRB2 взаимодействует с *ALK* и SHC и посредством белков SOS и SRC оказывает активирующее влияние на тот же каскад. Одним из последствий активации пути Ras/ERK является активация mTOR, мишенями которой, в свою очередь, являются белки p70S6K, S6RP и EIF4EBP1, задействованные в процессах трансляции и биогенеза рибосом [30]. Кроме того, под действием компонентов пути Ras/ERK происходит повышение активности циклинов A и D1, что приводит к ускорению продвижения по клеточному циклу. NPM::ALK также опосредует фосфорилирование JNK, что приводит к активации транскрипционных факторов семейства AP-1, в частности c-JUN. Последнее также способствует ускорению пролиферации клеток за счет увеличения активности циклина D1 и инактивации белка p21, относящегося к ингибиторам циклин-зависимых киназ [11, 31–35]. Кроме того, BAF3, относящийся к семейству AP-1, стимулирует экспрессию субъединиц IL-2R [36]. Известно, что IL-2 обеспечивает созревание, пролиферацию и выживание T-клеток [37]. Несмотря на то, что выработка IL-2 клетками АККЛ снижена (вероятно, это связано с выработкой IL-10, подавляющего IL-2), он может вырабатываться клетками опухолевого микроокружения, кроме того, клетки АККЛ способны вырабатывать IL-15, также стимулирующий IL-2R [36]. Информация о взаимодействии NPM::ALK и сигнального пути Ras/ERK суммирована на рисунке 2.

С NPM::ALK также напрямую взаимодействует PLCγ, что приводит к выработке DAG и IP3 и повышению уровня внутриклеточного кальция, в результате чего активируется PKC, оказывающая стимулирующее воздействие на путь Ras/ERK [38].

Взаимодействие NPM::ALK с сигнальным путем JAK3/STAT3 заключается в прямой или JAK3-опосредованной активации STAT3 [39]. Мишенями STAT3 являются белки-регуляторы апоптоза BCL2, BCL-X_L и MCL1, транскрипционный фактор C/EBPβ, белок сурвивин, задействованный в регуляции апоптоза и сборке веретена деления, а также различные циклины [11]. Кроме того, одним из эффектов активации сигнального пути JAK3/STAT3 является активация и рекрутирование метилтрансферазы DNMT1 на промоторы некоторых генов, что приводит к их гиперметилированию и эпигенетическому сайленсингу (например, это показано для гена, кодирующего белок SHP1, способный дефосфорилировать и инактивировать *ALK* и адаптерные белки) [40–42]. Последствия активации сигнального пути JAK3/STAT3 в клетках *ALK⁺* АККЛ представлены на рисунке 3.

Сигнальный каскад PI3K/Akt задействован в повышении пролиферативного потенциала и жизнеспособности клеток АККЛ. После взаимодействия с NPM::ALK PI3K активирует AKT1 и AKT2. Данные белки, в свою очередь, активируют mTOR, что приводит к активации рибосомальных белков S6K1 и S6RP и инактивации EIF4EBP1, и подавляют функцию таких проапоптотических белков, как BAD, а также угнетают FOXO3A-опосредованную транскрипцию некоторых проапоптотических белков (например, BIM) и ингибитора циклин-зависимых киназ p27 [11, 43]. Ингибирование FOXO3A также оказывает стимулирующее действие на циклин D2 [11, 44]. Информация о роли сигнального пути PI3K/Akt в патогенезе АККЛ представлена на *рисунке 4*.

Под действием химерного белка NPM::ALK также происходит изменение формы клеток и увеличивается их способность к миграции [45–47]. Это объясняется деполимеризацией актиновых филаментов, сборка которых регулируется такими белками, как SRC и SHP2, а также BCAR1 и потерей связи клеток с внеклеточным матриксом [33, 45, 48]. Кроме того, ALK модулирует активность Rho-ГТФаз посредством фосфорилирования белков семейства Vav, относящихся к факторам обмена гуаниновых нуклеотидов (GEFs), а также воздействия на других представителей GEFs и GAPs (ГТФаза-активирующие белки). Это приводит к активации белка RAC1, что способствует миграции и инвазии злокачественных клеток [11, 49, 50].

Еще одним сигнальным путем, активность которого была показана в клетках АККЛ, является NF-κB [51], оказывающий влияние на пролиферацию и выживание клеток, а также ангиогенез в различных злокачественных опухолях [52]. Семейство NF-κB состоит из 5 белков: RelA(p65), RelB, c-Rel, NFKB1 (p50 и его прекурсор p105), NFKB2 (p52 и его прекурсор p100), при этом активные транскрипционные факторы этого семейства образуются при формировании димеров из белков семейства NF-κB [53, 54]. Выделяют канонический и неканонический пути образования активных транскрипционных факторов семейства NF-κB. В отсутствие внешнего сигнала белки семейства NF-κB пребывают в цитоплазме в виде неактивных димеров (в рамках канонического пути димер p105-RelA/p65 дополнительно связан с ингибирующей молекулой IκBα, в рамках неканонического пути в цитоплазме присутствует димер p100-RelB). При передаче сигнала по каноническому пути происходит активация комплекса киназ IKK (IKKα, IKKβ, IKKγ), который фосфорилирует IκBα и p105. Фосфорилирование этих белков приводит к их убиквитинированию, протеасомной деградации IκBα и ограниченному протеолизу p105 с образова-

нием p50, в результате чего димер p50-RelA получает возможность транслоцироваться в ядро. При передаче сигнала по неканоническому пути происходит активация NF-κB-индуцирующей киназы (NIK), которая фосфорилирует и активирует IKKα, что приводит к фосфорилированию, убиквитинированию и ограниченному протеолизу p100 с образованием p52, после чего комплекс p52-RelB транслоцируется в ядро [51, 52]. В исследовании Wang и соавт. [51] в клетках АККЛ (как ALK⁺, так и ALK⁻) была обнаружена ядерная аккумуляция p52, свидетельствующая об активации NF-κB по неканоническому пути. В то же время не во всех клеточных линиях была выявлена стабилизация белка NIK, считающаяся ключевым этапом для активации NF-κB по неканоническому пути. Предполагается, что под действием компонентов сигнального пути JAK3/STAT3, активируемого под действием химерного белка NPM::ALK в большинстве ALK⁺ АККЛ, происходит усиление экспрессии NFKB2 (p100/p52), что способствует активации NF-κB по неканоническому пути. Сигнальный путь JAK3/STAT3 также приводит к экспрессии на мембране клетки CD30, что является одним из ключевых иммунофенотипических признаков АККЛ (при этом в клетках ALK⁺ АККЛ передача сигнала от CD30 заблокирована химерным белком NPM::ALK). В более ранних работах также было показано, что к аномальной активации NF-κB по неканоническому пути могут также приводить мутации генов, кодирующих TRAF3 и NIK (в классической лимфоме Ходжкина) [55], что свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения механизмов активации NF-κB в АККЛ. На *рисунке 5* представлены взаимодействие NPM::ALK с сигнальным путем NF-κB посредством путей JAK3/STAT3 и Ras/ERK, а также влияние CD30-опосредованного сигналинга на путь NF-κB.

Неоднозначным остается вопрос гистогенеза ALK⁺ АККЛ. ALK⁺ АККЛ относится к периферическим Т-клеточным лимфомам, так как она экспрессирует CD4 и CD30 (реже CD8), а также цитотоксические белки (гранзим В, перфорин), соответствует по профилю экспрессии генов зрелым Т-лимфоцитам и в основном локализуется в лимфатических узлах и других периферических тканях, но не в тимусе [56]. Эти признаки долгое время позволяли с уверенностью считать предшественниками ALK⁺ АККЛ зрелые активированные Т-лимфоциты [4, 23, 57]. Другие авторы выдвигали предположения о происхождении ALK⁺ АККЛ от регуляторных Т-лимфоцитов (T_{reg}-клетки) из-за экспрессии Foxp3, CD25 и синтеза клетками лимфомы IL-10 и TGFβ или Т-хелперов 17 (Th17-клетки) из-за выработки IL-17 [58–60]. Однако позднее появились работы, сообщающие о сходстве профиля экспрессии генов в клетках ALK⁺ АККЛ с профилем экспрессии генов в гемопоэ-

Рисунок 2

Роль сигнального пути Ras/ERK в патогенезе ALK⁺ АККЛ. По Chiarle и соавт. [11], с изменениями

Figure 2

The role of the Ras/ERK signaling pathway in the pathogenesis of ALK⁺ ALCL. Adapted from Chiarle et al. [11]

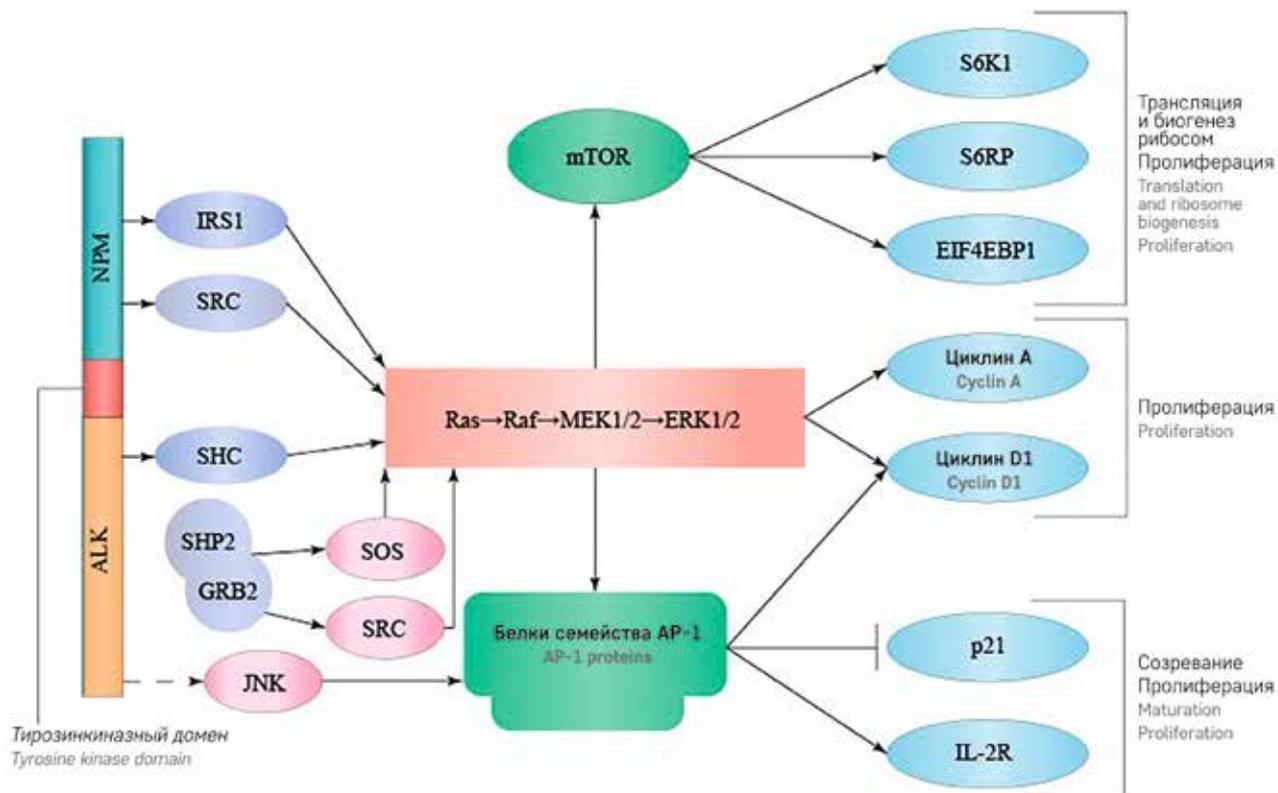


Рисунок 3

Роль сигнального пути JAK3/STAT3 в патогенезе АККЛ. По Chiarle и соавт. [11], с изменениями

Figure 3

The role of the JAK3/STAT3 signaling pathway in the pathogenesis of ALCL. Adapted from Chiarle et al. [11]

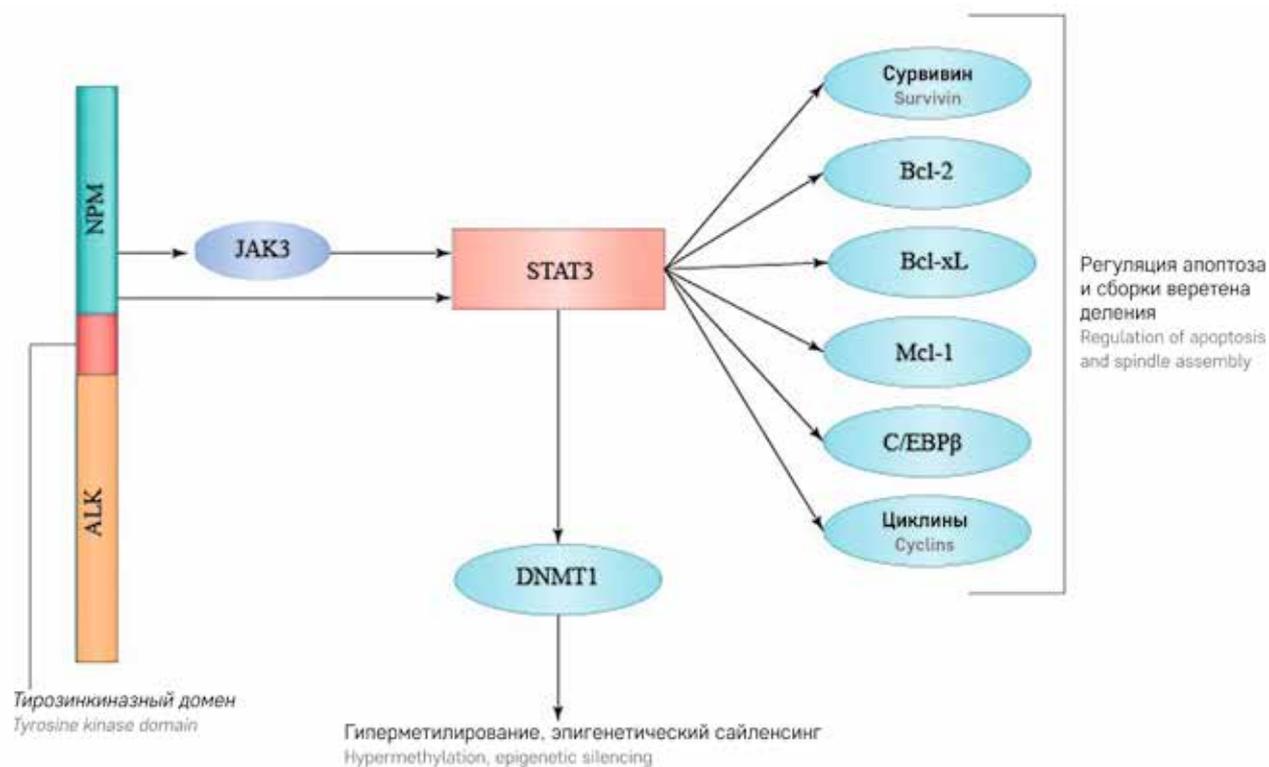
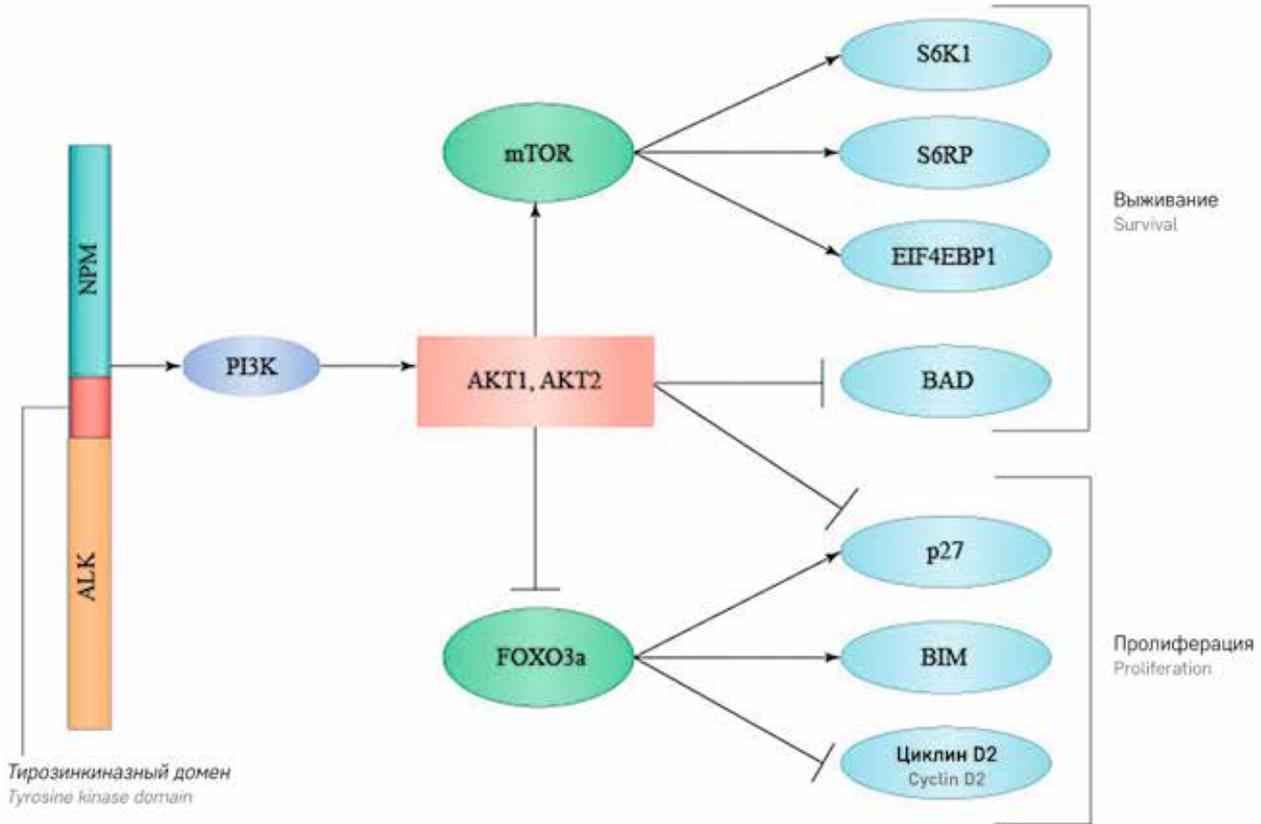


Рисунок 4

Роль сигнального пути PI3K/Akt в патогенезе АККЛ. По Chiarle и соавт. [11], с изменениями

Figure 4

The role of the PI3K/Akt signaling pathway in the pathogenesis of ALCL. Adapted from Chiarle et al. [11]



тических стволовых клетках или ранних тимических предшественниках (early thymic progenitors, ETP), это свидетельствует о том, что злокачественная трансформация может происходить на более ранних стадиях развития Т-клеток, происходящих в тимусе [61, 62]. В пользу этого предположения также свидетельствует выявление в ALK⁺ АККЛ нарушения или отсутствия перестройки β-цепи Т-клеточного рецептора (T-cell receptor, TCR), что в нормальных условиях не позволяет Т-лимфоцитам выжить и продолжить развитие [58]. Все это позволяет предположить, что клетки ALK⁺ АККЛ имеют тимическое происхождение и за счет экспрессии мощного фактора выживания обладают способностью развиваться и выходить в периферическую циркуляцию, несмотря на нарушение процессов перестройки TCR [56]. В работе Hassler и соавт. для определения гистогенеза использовалось сравнение метиломов клеток ALK⁺ АККЛ и Т-лимфоцитов на разных этапах развития (по мнению некоторых авторов, исследование профиля метилирования является более достоверным для определения гистогенеза злокачественных новообразований, чем изучение профиля экспрессии генов [63]). В результате было показано, что клетки ALK⁺ АККЛ по профилю метилирования демонстрируют сходство с ETP [64]. В работе

Malcolm и соавт. клетки ALK⁺ АККЛ были разделены на несколько групп по статусу перестройки генов различных цепей TCR: TCR germline (TCR GL) (γ^- , δ^- , β^{-DJ}), TCR $\alpha\beta$ (γ^{VJ} , δ^- , β^{VDJ}), TCR $\alpha\beta$ (γ^{VJ} , δ^{VDJ} , β^{DJVDJ}) и TCR γ only (γ^{VJ} , δ^- , β^{-DJ}). При этом статус перестройки генов цепей TCR позволяет определить этапы развития Т-лимфоцитов, на которых происходит онкогенная трансформация: клетки TCR GL возникают на этапе ETP, TCR $\gamma\delta$ – на этапе пре-Т-клеток, TCR $\alpha\beta$ и TCR γ – на этапе дважды позитивных (double positive) Т-клеток (рисунки 6). Преимущественное возникновение ALK⁺ АККЛ у детей и молодых взрослых (в этом возрасте наиболее активно происходят процессы развития в тимусе) также свидетельствует в пользу ее появления на ранних этапах развития Т-лимфоцитов [64].

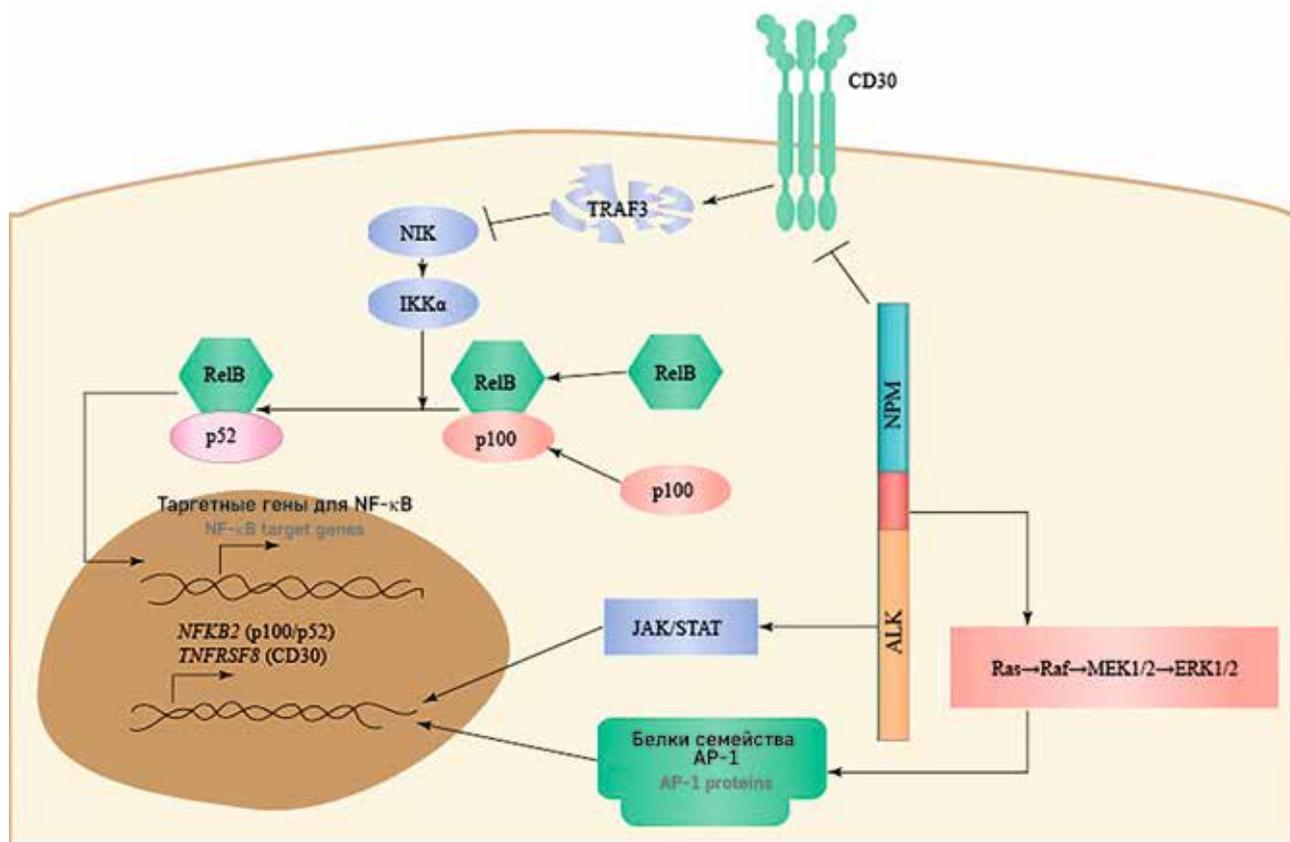
На роль фактора, способствующего выживанию, развитию и выходу из тимуса клеток АККЛ, может претендовать NPM::ALK. В эксперименте на мышинной модели Т-лимфоциты, несущие соответствующий химерный ген, могут выживать при отсутствии фермента RAG, отвечающего за перестройку TCR [58]. Показано, что NPM::ALK может активировать сигнальный путь Notch1, определяющий выживание Т-лимфоцитов в процессе β-селекции, а также усиливать экспрессию белков CD71

Рисунок 5

Сигнальный путь NF- κ B и CD30-опосредованный сигналинг в клетках ALK⁺ АККЛ. По Chiarle и соавт. [11] и Wang и соавт. [51], с изменениями

Figure 5

The NF- κ B signaling pathway and CD30-mediated signaling in ALK⁺ ALCL cells. Adapted from Chiarle et al. [11] and Wang et al. [51]



и CD98, которые являются транспортерами питательных веществ, необходимыми для массивной пролиферации лимфоцитов, происходящей после β -селекции. Таким образом, по всей видимости, онкогенный сигналинг, обусловленный NPM::ALK, может имитировать сигналинг от пре-TCR, что позволяет произойти перестройке α -цепи TCR без предшествовавшей надлежащей перестройки β -цепи TCR [58] (рисунк 6).

Исследование онкогенного сигналинга также позволяет пролить свет на формирование иммунофенотипа клеток АККЛ. Экспрессия гранзима В, перфорина, CD4, CD30, EMA, а также отсутствие экспрессии CD3 и редкая экспрессия CD8 не позволяют однозначно отнести их к определенной группе Т-клеток [65, 66]. Кроме того, в клетках ALK⁺ АККЛ обнаруживается экспрессия IL-17 и IL-22, что является характерным для Th17-клеток [67, 68]. Это объясняется тем, что формирование Th17-клеток происходит под действием IL-6 и TGF β , при этом NPM::ALK может стимулировать аутокринную продукцию IL-6 [60]. NPM::ALK также стимулирует экспрессию транскрипционного фактора Foxp3 и выработку IL-10 и TGF β клетками АККЛ посредством активации STAT3, что способствует приобретению клетками АККЛ сход-

ства с T_{reg}-лимфоцитами, однако происхождение АККЛ от T_{reg}-клеток в свете данных о роли NPM::ALK в формировании иммунофенотипа лимфомы представляется сомнительным [11, 59, 69]. Выработка перфорина и гранзима В, характерная для цитотоксических Т-лимфоцитов, также регулируется за счет NPM::ALK [60, 70]. Как уже было сказано, профиль экспрессии генов в клетках АККЛ не соответствует активированным Т-лимфоцитам, при этом в АККЛ отмечается экспрессия CD30 и EMA [56]. Было показано, что экспрессия CD30 в ALK⁺ АККЛ активируется под действием сигнала, передаваемого от NPM::ALK посредством ERK1, ERK2 И JUNB, а также STAT3 [71, 72]. Описанная некоторыми авторами экспрессия маркеров миелоидной дифференцировки (CD13, HLA-DR) в ALK⁺ АККЛ [73] может объясняться тем, что на стадии ETP, на которой, возможно, происходит злокачественная трансформация, клетки не являются окончательно коммитированными в направлении Т-лимфоцитов и обладают способностью развиваться в том числе в клетки миелоидного ряда [64].

Для ALK⁺ характерна активная экспрессия генов различных киназ (*LCK*, *PKC*, *VAV2*, *NKIAMRE*) и антиапоптотических белков (*NIP-1*, *NIP-3*, *PAR3*, *AATF*)

Рисунок 6

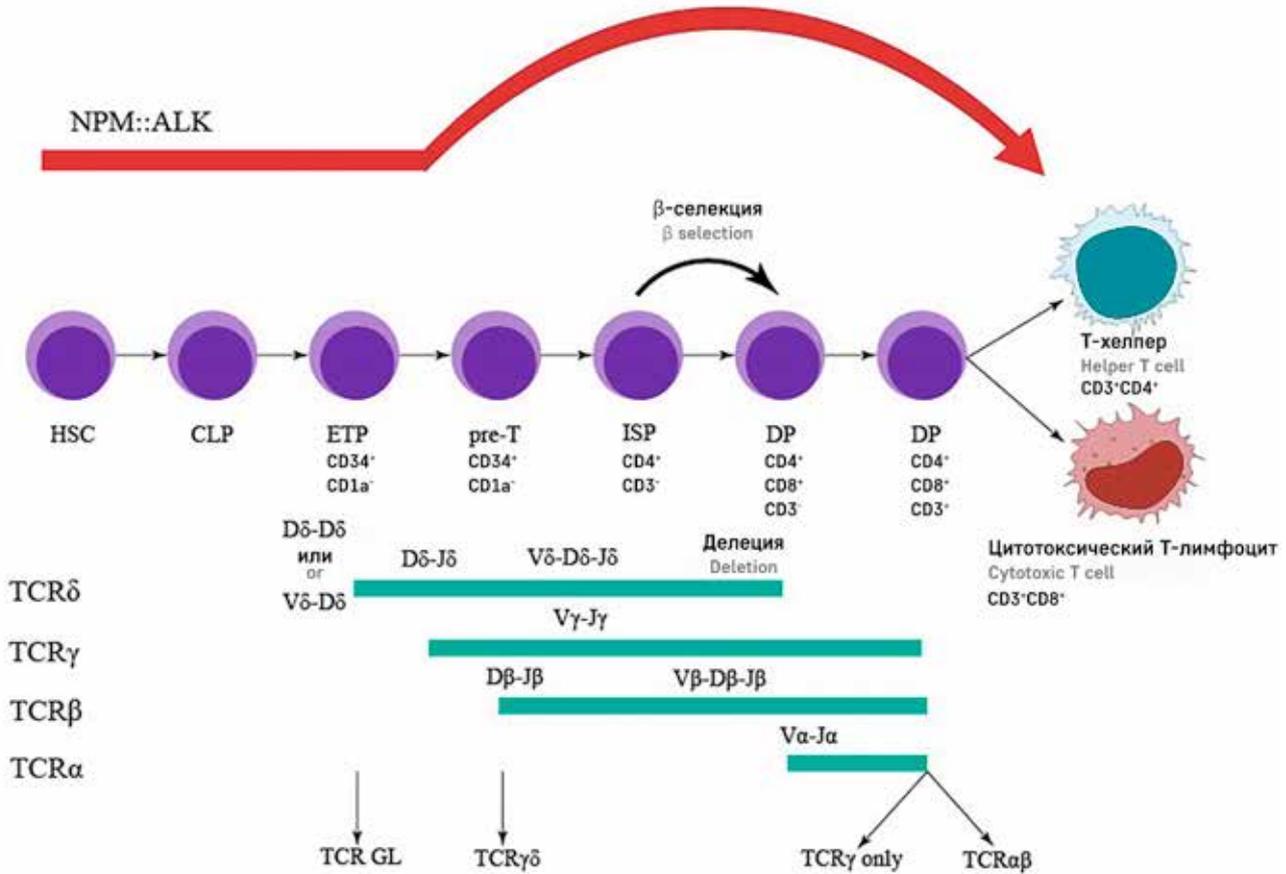
Гистогенез АККЛ в контексте развития Т-лимфоцитов, роль NPM::ALK. По Turner [79] и Malcolm и соавт. [58], с изменениями

HSC – гемопоэтическая стволовая клетка, CLP – общий лимфоидный предшественник, pre-T – пре-Т-лимфоцит, DP – дважды позитивный Т-лимфоцит

Figure 6

ALCL histogenesis and T cell development. The role of NPM::ALK. Adapted from Turner et al. [79] and Malcolm et al. [58]

HSC – hematopoietic stem cell; CLP – common lymphoid progenitor; ETP – early thymic progenitor; pre-T – pre-T cell; DP – double positive T cell



[74], а также генов, задействованных в процессах пролиферации (*FOS*, *JUN*, *MYC*) [31], *CCND3* (циклин D3) [74, 75], *SYK*, *LYN*, *CDC37*, *PRF1*, *IL1RAP*, *ILR2A*, *GAS1*, *BCL3*, *BCL6*, *PTPN12*, *CEBPB*, *SERPINA1*, *TMEM158* [74–77]), и генов, связанных с трансэндотелиальной миграцией лейкоцитов и функционированием адгезивных контактов. Большая часть последних задействована в реализации сигнального пути Wnt/β-catenin. Нарушение регуляции функции β-catenin связано с утратой адгезивных контактов и может объяснять частые экстранодальные поражения при ALK⁺ АККЛ [76]. При рецидивирующем и безрецидивном течении болезни клетки ALK⁺ АККЛ демонстрируют различные профили экспрессии генов. В случае рецидивирующей лимфомы отмечается повышенная экспрессия генов *FAM179A*, *ITGB7*, *MYOF1*, *SLC40A1* (ферропортин-1), *PTPN22*, *ROGDI*, задействованных в регуляции иммунного ответа, активации и пролиферации Т-лимфоцитов. В случае безрецидивного течения обнаруживается более активная экспрессия *INHBA*, *GPC6*, *SULF1*, *FN1*, *PLAU*, *FAP* – генов, задействованных в

отложении и организации внеклеточного матрикса (возможно, результатом этого является формирование микроокружения, неблагоприятного для клеток опухоли) [78].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ALK⁺ АККЛ представляет собой периферическую Т-клеточную лимфому, в основе развития которой лежит перестройка гена, кодирующего рецепторную тирозинкиназу. Уникальность патогенеза данного заболевания заключается в том, что генетический дефект возникает в Т-лимфоцитах на этапе их развития в тимусе, после чего под действием дополнительного иммунного стимула малигнизированные клетки выходят в периферическую циркуляцию. При этом об особой роли тимуса в патогенезе ALK⁺ АККЛ свидетельствует развитие заболевания почти исключительно у детей и молодых взрослых, т.е. в том возрасте, когда данный орган еще не подвержен полной инволюции. На сегодняшний день в клинической практике активно

исследуется применение таргетных препаратов, ингибирующих тирозинкиназы (кризотиниб и другие анти-ALK-препараты), а исследование молекулярных механизмов развития ALK⁺ АККЛ может способствовать изменению подхода к стратификации на группы риска для выбора оптимальной тактики лечения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Abramov D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3664-2876>

Fedorova A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4699-1730>

Volchikov E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2574-1636>

Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Konovalov D.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7732-8184>

Литература

- Lowe E.J., Gross T.G. Anaplastic large cell lymphoma in children and adolescents. *Pediatr Hematol Oncol* 2013; 30 (6): 509–19. DOI: 10.3109/08880018.2013.805347
- Stein H., Foss H.D., Durkop H., Marafioti T., Delsol G., Pulford K., et al. CD30⁺ anaplastic large cell lymphoma: a review of its histopathologic, genetic, and clinical features. *Blood* 2000; 96 (12): 3681–95. DOI: 10.1182/BLOOD.V96.12.3681
- Falini B., Lamant L., Campo E., Jaffe E.S., Gascoyne R.D., Stein H., et al. Anaplastic large cell lymphoma, ALK positive. In: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H. (eds.). *Who Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues*. IARC: Lyon (France); 2017. Pp. 413–418.
- Benharroch D., Meguerian-Bedoyan Z., Lamant L., Amin C., Brugières L., Terrier-Lacombe M.J., et al. ALK-positive lymphoma: A single disease with a broad spectrum of morphology. *Blood* 1998; 91 (6): 2076–84. DOI: 10.2/JQUERY.MIN.JS
- Lamant L., McCarthy K., D'Amore E., Klapper W., Nakagawa A., Fraga M., et al. Prognostic impact of morphologic and phenotypic features of childhood ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma: results of the ALCL99 study. *J Clin Oncol* 2011; 29 (35): 4669–76. DOI: 10.1200/JCO.2011.36.5411
- Seidemann K., Tiemann M., Schrappe M., Yakisan E., Simonsitsch I., Janka-Schaub G., et al. Short-pulse B-non-Hodgkin lymphoma-type chemotherapy is efficacious treatment for pediatric anaplastic large cell lymphoma: a report of the Berlin-Frankfurt-Münster Group Trial NHL-BFM 90. *Blood* 2001; 97 (12): 3699–706. DOI: 10.1182/BLOOD.V97.12.3699
- Tole S., Wheaton L., Alexander S. Pediatric Anaplastic Large Cell Lymphoma – A Review. *Oncol Hematol Rev* 2018; 14 (1): 21–7.
- Morris S.W., Naeve C., Mathew P., James P.L., Kirstein M.N., Cui X., et al. ALK, the chromosome 2 gene locus altered by the t(2;5) in non-Hodgkin's lymphoma, encodes a novel neural receptor tyrosine kinase that is highly related to leukocyte tyrosine kinase (LTK). *Oncogene* 1997; 14 (18): 2175–88. DOI: 10.1038/SJ.ONC.1201062
- Morris S.W., Kirstein M.N., Valentine M.B., Dittmer K.G., Shapiro D.N., Saltman D.L., et al. Fusion of a Kinase Gene, ALK, to a Nucleolar Protein Gene, NPM, in Non-Hodgkin's Lymphoma. *Science* 1994; 263 (5151): 1281–4. DOI: 10.1126/SCIENCE.8122112
- Iwahara T., Fujimoto J., Wen D., Cupples R., Bucay N., Arakawa T. et al. Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. *Oncogene* 1997; 14 (4): 439–49. DOI: 10.1038/SJ.ONC.1200849
- Chiarle R., Voena C., Ambrogio C., Piva R., Inghirami G. The anaplastic lymphoma kinase in the pathogenesis of cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8 (1): 11–23. DOI: 10.1038/NRC2291
- Kinney M.C., Higgins R.A., Medina E.A. Anaplastic large cell lymphoma: twenty-five years of discovery. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135 (1): 19–43. DOI: 10.5858/2010-0507-RAR.1
- Ladanyi M., Cavalchire G. Molecular variant of the NPM-ALK rearrangement of Ki-1 lymphoma involving a cryptic ALK splice site. *Genes Chromosomes Cancer* 1996; 15 (3): 173–7. DOI: 10.1002/(sici)1098-2264(199603)15:3<173::aid-gc-c5>3.0.co;2-#
- Grisendi S., Mecucci C., Falini B., Pandolfi P.P. Nucleophosmin and cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6 (7): 493–505. DOI: 10.1038/NRC1885
- Cools J., Wlodarska I., Somers R., Mentens N., Peddeutour F., Maes B. et al. Identification of novel fusion partners of ALK, the anaplastic lymphoma kinase, in anaplastic large-cell lymphoma and inflammatory myofibroblastic tumor. *Genes Chromosomes Cancer* 2002; 34 (4): 354–62. DOI: 10.1002/GCC.10033
- Hernández L., Beà S., Bellosillo B., Pinyol M., Falini B., Carbone A. et al. Diversity of genomic breakpoints in TFG-ALK translocations in anaplastic large cell lymphomas: identification of a new TFG-ALK(XL) chimeric gene with transforming activity. *Am J Pathol* 2002; 160 (4): 1487–94. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62574-6
- Lamant L., Dastugue N., Pulford K., Delsol G., Mariamé B. A new fusion gene *TPM3-ALK* in anaplastic large cell lymphoma created by a (1;2)(q25;p23) translocation. *Blood* 1999; 93 (9): 3088–95. DOI: 10.1182/blood.v93.9.3088.409k30_3088_3095
- Meech S.J., McGavran L., Odom L.F., Liang X., Maltesen L., Gump J., et al.

- Unusual childhood extramedullary hematologic malignancy with natural killer cell properties that contains tropomyosin 4-anaplastic lymphoma kinase gene fusion. *Blood* 2001; 98 (4): 1209–16. DOI: 10.1182/BLOOD.V98.4.1209
19. Lamant L., Gascoyne R.D., Duplantier M.M., Armstrong F., Raghav A., Chhanabhai M. et al. Non-muscle myosin heavy chain (MYH9): a new partner fused to ALK in anaplastic large cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 37 (4): 427–32. DOI: 10.1002/GCC.10232
 20. Touriol C., Greenland C., Lamant L., Pulford K., Bernard F., Rousset T. et al. Further demonstration of the diversity of chromosomal changes involving 2p23 in ALK-positive lymphoma: 2 cases expressing ALK kinase fused to CLTCL (clathrin chain polypeptide-like). *Blood* 2000; 95 (10): 3204–7. DOI: 10.1182/blood.v95.10.3204.010k04_3204_3207
 21. Colleoni G.W.B., Bridge J.A., Garicochea B., Liu J., Filippa D.A., Ladanyi M. ATIC-ALK: A novel variant ALK gene fusion in anaplastic large cell lymphoma resulting from the recurrent cryptic chromosomal inversion, inv(2)(p23q35). *Am J Pathol* 2000; 156 (3): 781–9. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64945-0
 22. Tort F., Pinyol M., Pulford K., Roncador G., Hernandez L., Nayach I., et al. Molecular characterization of a new ALK translocation involving moesin (MSN-ALK) in anaplastic large cell lymphoma. *Lab Invest* 2001; 81 (3): 419–26. DOI: 10.1038/LABINVEST.3780249
 23. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., et al. (eds.). World Health Organization (WHO) classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC: Lyon (France); 2008.
 24. Чернышова Е.В., Абрамов Д.С., Коновалов Д.М., Ларин С.С., Мякова Н.В. Молекулярно-биологические характеристики ALK-позитивной анапластической крупноклеточной лимфомы. *Онкогематология* 2016; (4): 25–31. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-4-25-31 [Chernyshova E.V., Abramov D.S., Kononov D.M., Larin S.S., Myakova N.V. Molecular biological characteristics of ALK-positive anaplastic large cell lymphoma. *Oncohematology* 2016; (4): 25–31. (In Russ.)].
 25. Maes B., Vanhentenrijk V., Wlodarska I., Cools J., Peeters B., Marynen P., et al. The NPM-ALK and the ATIC-ALK fusion genes can be detected in non-neoplastic cells. *Am J Pathol* 2001; 158 (6): 2185–93. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64690-1
 26. Trümper L., Pfreundschuh M., Bonin F.V., Daus H. Detection of the t(2;5)-associated NPM/ALK fusion cDNA in peripheral blood cells of healthy individuals. *Br J Haematol* 1998; 103 (4): 1138–44. DOI: 10.1046/J.1365-2141.1998.01097.X
 27. McDuff F.K.E., Turner S.D. Aberrant anaplastic lymphoma kinase activity induces a p53 and Rb-dependent senescence-like arrest in the absence of detectable p53 stabilization. *PLoS One* 2011; 6 (3): e17854. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0017854
 28. Martinelli P., Bonetti P., Sironi C., Pruneri G., Fumagalli C., Raviele P.R., et al. The lymphoma-associated NPM-ALK oncogene elicits a p16INK4a/pRb-dependent tumor-suppressive pathway. *Blood* 2011; 117 (24): 6617–26. DOI: 10.1182/BLOOD-2010-08-301135
 29. Salaverria I., Beà S., Lopez-Guillermo A., Lespinet V., Pinyol M., Burkhardt B., et al. Genomic profiling reveals different genetic aberrations in systemic ALK-positive and ALK-negative anaplastic large cell lymphomas. *Br J Haematol* 2008; 140 (5): 516–26. DOI: 10.1111/J.1365-2141.2007.06924.X
 30. Marzec M., Kasprzycka M., Liu X., El-Salem M., Halasa K., Raghunath P.N., et al. Oncogenic tyrosine kinase NPM/ALK induces activation of the rapamycin-sensitive mTOR signaling pathway. *Oncogene* 2007; 26 (38): 5606–14. DOI: 10.1038/SJ.ONC.1210346
 31. Wellmann A., Doseeva V., Butscher W., Raffeld M., Fukushima P., Stetler-Stevenson M., et al. The activated anaplastic lymphoma kinase increases cellular proliferation and oncogene up-regulation in rat 1a fibroblasts. *FASEB J* 1997; 11 (12): 965–72. DOI: 10.1096/FASEBJ.11.12.9337149
 32. Fujimoto J., Shiota M., Iwahara T., Seki N., Satoh H., Mori S., et al. Characterization of the transforming activity of p80, a hyperphosphorylated protein in a Ki-1 lymphoma cell line with chromosomal translocation t(2;5). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93 (9): 4181–6. DOI: 10.1073/PNAS.93.9.4181
 33. Voena C., Conte C., Ambrogio C., Erba E.B., Boccalatte F., Mohammed S., et al. The tyrosine phosphatase Shp2 interacts with NPM-ALK and regulates anaplastic lymphoma cell growth and migration. *Cancer Res* 2007; 67 (9): 4278–86. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4350
 34. Sattler M., Mohi M.G., Pride Y.B., Quinnan L.R., Malouf N.A., Podar K., et al. Critical role for Gab2 in transformation by BCR/ABL. *Cancer Cell* 2002; 1 (5): 479–92. DOI: 10.1016/S1535-6108(02)00074-0
 35. Leventaki V., Drakos E., Medeiros L.J., Lim M.S., Elenitoba-Johnson K.S., Claret F.X., et al. NPM-ALK oncogenic kinase promotes cell-cycle progression through activation of JNK/cJun signaling in anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2007; 110 (5): 1621–30. DOI: 10.1182/BLOOD-2006-11-059451
 36. Liang H.C., Costanza M., Prutsch N., Zimmerman M.W., Gurnhofer E., Montes-Mojarro I.A., et al. Super-enhancer-based identification of a BATF3/IL-2R-module reveals vulnerabilities in anaplastic large cell lymphoma. *Nat Commun* 2021; 12 (1): 1–12. DOI: 10.1038/s41467-021-25379-9
 37. Malek T.R., Castro I. Interleukin-2 receptor signaling: at the interface between tolerance and immunity. *Immunity* 2010; 33 (2): 153–65. DOI: 10.1016/J.IMMUNI.2010.08.004
 38. Bai R.-Y., Dieter P., Peschel C., Morris S.W., Duyster J. Nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase of large-cell anaplastic lymphoma

- is a constitutively active tyrosine kinase that utilizes phospholipase C- γ to mediate its mitogenicity. *Mol Cell Biol* 1998; 18 (12): 6951–61. DOI: 10.1128/MCB.18.12.6951
39. Amin H.M., Medeiros L.J., Ma Y., Feretzaki M., Das P., Leventaki V., et al. Inhibition of JAK3 induces apoptosis and decreases anaplastic lymphoma kinase activity in anaplastic large cell lymphoma. *Oncogene* 2003; 22 (35): 5399–407. DOI: 10.1038/SJ.ONC.1206849
 40. Han Y., Amin H.M., Frantz C., Franko B., Lee J., Lin Q., et al. Restoration of shp1 expression by 5-AZA-2'-deoxycytidine is associated with downregulation of JAK3/STAT3 signaling in ALK-positive anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia* 2006; 20 (9): 1602–9. DOI: 10.1038/SJ.LEU.2404323
 41. Zhang Q., Wang H.Y., Marzec M., Raghunath P.N., Nagasawa T., Wasik M.A. STAT3- and DNA methyltransferase 1-mediated epigenetic silencing of SHP-1 tyrosine phosphatase tumor suppressor gene in malignant T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102 (19): 6948–53. DOI: 10.1073/PNAS.0501959102
 42. Zhang Q., Wang H.Y., Liu X., Wasik M.A. STAT5A is epigenetically silenced by the tyrosine kinase NPM1-ALK and acts as a tumor suppressor by reciprocally inhibiting NPM1-ALK expression. *Nat Med* 2007; 13 (11): 1341–8. DOI: 10.1038/NM1659
 43. Vega F., Medeiros L.J., Leventaki V., Atwell C., Cho-Vega J.H., Tian L., et al. Activation of mammalian target of rapamycin signaling pathway contributes to tumor cell survival in anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma. *Cancer Res* 2006; 66 (13): 6589–97. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3018
 44. Gu T.L., Tothova Z., Scheijen B., Griffin J.D., Gilliland D.G., Sternberg D.W. NPM-ALK fusion kinase of anaplastic large-cell lymphoma regulates survival and proliferative signaling through modulation of FOXO3a. *Blood* 2004; 103 (12): 4622–9. DOI: 10.1182/BLOOD-2003-03-0820
 45. Ambrogio C., Voena C., Manazza A.D., Piva R., Riera L., Barberis L., et al. p130Cas mediates the transforming properties of the anaplastic lymphoma kinase. *Blood* 2005; 106 (12): 3907–16. DOI: 10.1182/BLOOD-2005-03-1204
 46. Horie R., Watanabe M., Ishida T., Koiwa T., Aizawa S., Itoh K., et al. The NPM-ALK oncoprotein abrogates CD30 signaling and constitutive NF- κ B activation in anaplastic large cell lymphoma. *Cancer Cell* 2004; 5 (4): 353–64. DOI: 10.1016/S1535-6108(04)00084-4
 47. Moteji A., Fujimoto J., Kotani M., Sakuraba H., Yamamoto T. ALK receptor tyrosine kinase promotes cell growth and neurite outgrowth. *J Cell Sci* 2004; 117 (Pt 15): 3319–29. DOI: 10.1242/JCS.01183
 48. Cussac D., Greenland C., Roche S., Bai R.Y., Duyster J., Morris S.W., et al. Nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase of anaplastic large-cell lymphoma recruits, activates, and uses pp60c-src to mediate its mitogenicity. *Blood* 2003; 103 (4): 1464–71. DOI: 10.1182/BLOOD-2003-04-1038
 49. Piva R., Pellegrino E., Mattioli M., Agnelli L., Lombardi L., Boccalatte F., et al. Functional validation of the anaplastic lymphoma kinase signature identifies CEBPB and Bcl2A1 as critical target genes. *J Clin Invest* 2006; 116 (12): 3171–82. DOI: 10.1172/JCI29401
 50. Colomba A., Courilleau D., Ramel D., Billadeau D.D., Espinos E., Delsol G., et al. Activation of Rac1 and the exchange factor Vav3 are involved in NPM-ALK signaling in anaplastic large cell lymphomas. *Oncogene* 2007; 27 (19): 2728–36. DOI: 10.1038/SJ.ONC.1210921
 51. Wang H., Wei W., Zhang J.P., Song Z., Li Y., Xiao W., et al. A novel model of alternative NF- κ B pathway activation in anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia* 2020; 35 (7): 1976–89. DOI: 10.1038/S41375-020-01088-Y
 52. Xia L., Tan S., Zhou Y., Lin J., Wang H., Oyang L., et al. Role of the NF- κ B signaling pathway in cancer. *Oncotargets Ther* 2018; 11: 2063–73. DOI: 10.2147/OTT.S161109
 53. Rothwarf D.M., Karin M. The NF- κ B activation pathway: a paradigm in information transfer from membrane to nucleus. *Sci STKE* 1999; 1999 (5): RE1. DOI: 10.1126/STKE.1999.5.RE1
 54. Hayden M.S., Ghosh S. Signaling to NF- κ B. *Genes Dev* 2004; 18 (18): 2195–224. DOI: 10.1101/GAD.1228704
 55. Otto C., Giefing M., Massow A., Vater I., Gesk S., Schlesner M., et al. Genetic lesions of the TRAF3 and MAP3K14 genes in classical Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2012; 157 (6): 702–8. DOI: 10.1111/J.1365-2141.2012.09113.X
 56. Turner S.D. An Exploration into the Origins and Pathogenesis of Anaplastic Large Cell Lymphoma, Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK)-Positive. *Cancers (Basel)* 2017; 9 (10): 14. DOI: 10.3390/cancers9100141
 57. Eckerle S., Brune V., Döring C., Tiacci E., Bohle V., Sundström C., et al. Gene expression profiling of isolated tumour cells from anaplastic large cell lymphomas: insights into its cellular origin, pathogenesis and relation to Hodgkin lymphoma. *Leukemia* 2009; 23 (11): 2129–38. DOI: 10.1038/LEU.2009.161
 58. Malcolm T.I.M., Villarese P., Fairbairn C.J., Lamant L., Trinquand A., Hook C.E., et al. Anaplastic large cell lymphoma arises in thymocytes and requires transient TCR expression for thymic egress. *Nat Commun* 2016; 7: 10087. DOI: 10.1038/NCOMMS10087
 59. Kasprzycka M., Marzec M., Liu X., Zhang Q., Wasik M.A. Nucleophosmin/anaplastic lymphoma kinase (NPM/ALK) oncoprotein induces the T regulatory cell phenotype by activating STAT3. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103 (26): 9964–9. DOI: 10.1073/PNAS.0603507103
 60. Matsuyama H., Suzuki H.I., Nishimori H., Noguchi M., Yao T., Komatsu N., et al. miR-135b mediates NPM-ALK-driven oncogenicity and renders IL-17-producing immunophenotype to anaplastic large cell

- lymphoma. *Blood* 2011; 118 (26): 6881–92. DOI: 10.1182/BLOOD-2011-05-354654
61. Laurent C., Lopez C., Desjobert C., Berrebi A., Damm-Welk C., Delsol G., et al. Circulating t(2;5)-positive cells can be detected in cord blood of healthy newborns. *Leukemia* 2011; 26 (1): 188–90. DOI: 10.1038/LEU.2011.209
 62. Moti N., Malcolm T., Hamoudi R., Mian S., Garland G., Hook C.E., et al. Anaplastic large cell lymphoma-propagating cells are detectable by side population analysis and possess an expression profile reflective of a primitive origin. *Oncogene* 2014; 34 (14): 1843–52. DOI: 10.1038/ONC.2014.112
 63. Fernandez A.F., Assenov Y., Martin-Subero J.I., Balint B., Siebert R., Taniguchi H., et al. A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples. *Genome Res* 2011; 22 (2): 407–19. DOI: 10.1101/GR.119867.110
 64. Hassler M.R., Pulverer W., Lakshminarasimhan R., Redl E., Hacker J., Garland G.D., et al. Insights into the Pathogenesis of Anaplastic Large-Cell Lymphoma through Genome-wide DNA Methylation Profiling. *Cell Rep* 2016; 17 (2): 596–608. DOI: 10.1016/J.CELREP.2016.09.018
 65. Bonzheim I., Geissinger E., Roth S., Zettl A., Marx A., Rosenwald A., et al. Anaplastic large cell lymphomas lack the expression of T-cell receptor molecules or molecules of proximal T-cell receptor signaling. *Blood* 2004; 104 (10): 3358–60. DOI: 10.1182/BLOOD-2004-03-1037
 66. Delsol G., Falini B., Müller-Hermelink H.K., Campo E., Jaffe E.S., Gascoyne R.D. Anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive. In: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., et al. (eds.). *World Health Organization (WHO) classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. IARC: Lyon (France); 2008. Pp. 312–316.
 67. Iqbal J., Weisenburger D.D., Greiner T.C., Vose J.M., McKeithan T., Kucuk C., et al. Molecular signatures to improve diagnosis in peripheral T-cell lymphoma and prognostication in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood* 2010; 115 (5): 1026–36. DOI: 10.1182/BLOOD-2009-06-227579
 68. Savan R., McFarland A.P., Reynolds D.A., Feigenbaum L., Ramakrishnan K., Karwan M., et al. A novel role for IL-22R1 as a driver of inflammation. *Blood* 2011; 117 (2): 575–84. DOI: 10.1182/BLOOD-2010-05-285908
 69. Roncador G., Garcia J.F., Garcia J.F., Maestre L., Lucas E., Menarguez J., et al. FOXP3, a selective marker for a subset of adult T-cell leukaemia/lymphoma. *Leukemia* 2005; 19 (12): 2247–53. DOI: 10.1038/SJ.LEU.2403965
 70. Pearson J.D., Lee J.K.H., Bacani J.T.C., Lai R., Ingham R.J. NPM-ALK and the JunB transcription factor regulate the expression of cytotoxic molecules in ALK-positive, anaplastic large cell lymphoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2011; 4 (2): 124–33.
 71. Hsu F.Y.Y., Johnston P.B., Burke K.A., Zhao Y. The expression of CD30 in anaplastic large cell lymphoma is regulated by nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase-mediated JunB level in a cell type-specific manner. *Cancer Res* 2006; 66 (18): 9002–8. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4101
 72. Watanabe M., Sasaki M., Itoh K., Higashihara M., Umezawa K., Kadin M.E., et al. JunB induced by constitutive CD30-extracellular signal-regulated kinase 1/2 mitogen-activated protein kinase signaling activates the CD30 promoter in anaplastic large cell lymphoma and reed-sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Cancer Res* 2005; 65 (17): 7628–34. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0925
 73. Popnikolov N.K., Payne D.A., Hudson S.D., Hawkins H.K., Kumar M., Norris B.A., et al. CD13-positive anaplastic large cell lymphoma of T-cell origin—a diagnostic and histogenetic problem. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124 (12): 1804–8. DOI: 10.5858/2000-124-1804-CPALCL
 74. Thompson M.A., Stumph J., Henrickson S.E., Rosenwald A., Wang Q.F., Olson S., et al. Differential gene expression in anaplastic lymphoma kinase-positive and anaplastic lymphoma kinase-negative anaplastic large cell lymphomas. *Hum Pathol* 2005; 5 (36): 494–504. DOI: 10.1016/J.HUMPATH.2005.03.004
 75. Agnelli L., Mereu E., Pellegrino E., Limongi T., Kwee I., Bergaggio E., et al. Identification of a 3-gene model as a powerful diagnostic tool for the recognition of ALK-negative anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2012; 120 (6): 1274–81. DOI: 10.1182/BLOOD-2012-01-405555
 76. Lamant L., De Reyniès A., Duplantier M.M., Rickman D.S., Sabourdy F., Giuriato S., et al. Gene-expression profiling of systemic anaplastic large-cell lymphoma reveals differences based on ALK status and two distinct morphologic ALK+ subtypes. *Blood* 2006; 109 (5): 2156–64. DOI: 10.1182/BLOOD-2006-06-028969
 77. Piva R., Agnelli L., Pellegrino E., Todoerti K., Grosso V., Tamagno I., et al. Gene expression profiling uncovers molecular classifiers for the recognition of anaplastic large-cell lymphoma within peripheral T-cell neoplasms. *J Clin Oncol* 2010; 28 (9): 1583–90. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.9759
 78. Daugrois C., Bessiere C., Dejean S., Anton-Leberre V., Thérèse C., Pyronnet S., et al. Gene Expression Signature Associated with Clinical Outcome in ALK-Positive Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Cancers* 2021; 13: 5523. DOI: 10.3390/CANCERS13215523
 79. Turner S.D. *The Pathogenesis of Anaplastic Large Cell Lymphoma*. In: Ablu O., Attarbaschi A. (eds.). *Non-Hodgkin's Lymphoma in Childhood and Adolescence*. Springer International Publishing: Cham; 2019. Pp. 57–65.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 21.02.2024
Принята к печати 15.03.2024



EDN: TMUQXI

Контактная информация:

Зозуля Надежда Ивановна,
д-р мед. наук, врач-гематолог, заведующая
клинико-диагностическим отделением
гематологии и нарушений гемостаза ФГБУ
«НМИЦ гематологии» Минздрава России
Адрес: 125167, Москва,
Новый Зыковский проезд, 4
E-mail: zozulya.n@blood.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-192-199

Особенности клинического течения и терапии гемофилии В

Н.И. Зозуля¹, Т.А. Андреева², П.А. Жарков³, В.В. Вдовин⁴

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва

²Городской центр по лечению больных гемофилией СПб ГБУЗ «Городская поликлиника №37», Санкт-Петербург

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

⁴ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

Гемофилия В – дефицит фактора свертывания крови IX (FIX) – наряду с гемофилией А и болезнью Виллебранда является одной из наиболее часто встречающихся наследственных коагулопатий. Пациенты с гемофилией В так же, как и при гемофилии А, нуждаются в проведении профилактической терапии для предупреждения развития кровотечений и артропатий, а в их лечении отмечается целый ряд нерешенных проблем. При этом арсенал лекарственных препаратов для лечения гемофилии В существенно меньше по сравнению с гемофилией А, в связи с чем появление новых препаратов для терапии дефицита FIX имеет большое практическое значение для врачей и пациентов. В статье представлена информация об особенностях патогенеза и клинического течения гемофилии В, обсуждаются наиболее перспективные направления в лечении этого заболевания, такие как инновационные рекомбинантные молекулы FIX, ребалансирующая и генная терапия. Кроме того, обозначены клинические и лабораторные критерии необходимости смены терапии у пациентов с гемофилией В, а также представлены клинические случаи перевода на пролонгированный препарат FIX. Родители пациентов дали согласие на использование информации об их детях в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: гемофилия В, фактор свертывания крови IX, кровотечение, деформирующая артропатия, албутрепенаког альфа, ребалансирующая терапия гемофилии, генная терапия гемофилии

Зозуля Н.И. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 192–9. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-192-199

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 21.02.2024

Accepted 15.03.2024

Clinical features and treatment of hemophilia B

N.I. Zozulya¹, T.A. Andreeva², P.A. Zharkov³, V.V. Vdovin⁴

¹National Medical Research Center for Hematology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²City Center for the Treatment of Hemophilia Patients, City Outpatient Clinic No. 37, Saint Petersburg

³The Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

⁴The Morozov Children's City Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow

Hemophilia B – a deficiency of blood coagulation factor IX (FIX) – is one of the most common hereditary coagulopathies along with hemophilia A and von Willebrand disease. As in hemophilia A, patients with hemophilia B require prophylactic treatment to prevent the development of bleeding and arthropathy, and there is a number of unsolved problems in their treatment. At the same time, the arsenal of drugs for the treatment of hemophilia B is significantly smaller compared to hemophilia A, and therefore the emergence of new drugs for the treatment of FIX deficiency is of great practical importance for doctors and patients. The article provides information about the pathogenesis and clinical course of hemophilia B, discusses the most promising areas in the treatment of this disease, such as innovative recombinant FIX molecules, rebalancing and gene therapy. In addition, we outlined clinical and laboratory criteria indicating the necessity to change treatment in patients with hemophilia B as well as presented clinical cases of patients who were switched to long-acting FIX products. The patients' parents gave their consent to the use of their children's data for research purposes and in publications.

Key words: hemophilia B, blood coagulation factor IX, bleeding, deforming arthropathy, albutrepenonacog alfa, rebalancing therapy for hemophilia, gene therapy for hemophilia

Zozulya N.I., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 192–9.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-192-199

Эпидемиология гемофилии В

Гемофилия В составляет около 10–15% всех случаев гемофилии [1]. По данным опроса Всемирной федерации гемофилии за 2021 г., общее число пациентов с гемофилией В в мире составляло 37 998 [2]. В России, по данным Министерства здравоохранения, на май 2023 г. зарегистрированы 1354 пациента с этим заболеванием. Среди детей с наследственными коагулопатиями распространенность гемофилии В, по данным ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, составила 9% [3].

Сравнительная характеристика гемофилии А и В

Два вида гемофилии во многом сходны, однако между ними имеются и различия, в том числе существенные для клинициста. Сравнительная характеристика заболеваний приведена в таблице.

Оба вида гемофилии – А и В – вызваны мутациями в генах белков свертывания крови и имеют X-сцепленный рецессивный тип наследования. Однако в вариантах мутаций существуют различия: при гемофилии В чаще встречаются ненулевые

мутации (58% составляют миссенс-мутации), при которых синтезируется небольшое количество FIX, обеспечивающее некоторую защиту от кровотечений [4].

Также у FIX имеются особенности в фармакодинамике: эта молекула способна проникать в экстраваскулярное пространство. Находясь вне кровотока, FIX может участвовать в каскаде коагуляции, однако при этом не определяется посредством лабораторных анализов. Таким образом, в некоторых случаях тяжесть заболевания по данным активности FIX в крови может не соответствовать наблюдаемой клинической картине. С клинической точки зрения наиболее важны различия в периоде полувыведения факторов свертывания крови: для FIX он составляет около 24 ч, в то время как для фактора свертывания крови FVIII (FVIII) – около 12 ч [4]. Период полувыведения определяет разный режим введения препаратов для заместительной терапии в режиме профилактики: плазматические препараты FIX обычно вводятся 2 раза/нед, FVIII – 3 раза/нед [1].

Особенности клинического течения гемофилии В

Клинические проявления гемофилии В в целом не имеют существенных отличий от гемофилии А: наиболее типичными симптомами являются суставные кровотечения, а также кровоизлияния в мышцы и мягкие ткани [1]. Однако при гемофилии В несколько реже наблюдается тяжелая форма заболевания: в 30–40% случаев по сравнению с 60% при гемофилии А [4].

На данный момент имеются несколько противоречивые данные относительно различий в тяжести клинического течения 2 видов гемофилии. Анализ

данных крупного многоцентрового регистра PedNet, в который были включены 870 пациентов детского возраста (737 с гемофилией А и 133 с гемофилией В), получавших терапию в режиме профилактики, показал, что во всех возрастных группах частота кровотечений у детей с гемофилией В была несколько ниже, чем у больных гемофилией А [5]. Однако данные о более легком клиническом течении гемофилии В не находят подтверждения в других наблюдательных исследованиях [6] и далеко не все эксперты отмечают наличие таких различий в реальной клинической практике. Сравнение результатов опроса о качестве жизни пациентов с гемофилией А и В с использованием шкалы EQ-5D-3L не выявило существенных различий [7]. Наличие выраженных болей или дискомфорта отмечали 56% пациентов с гемофилией А и 62% – с гемофилией В, сложности с мобильностью и передвижением – 44% и 46% соответственно [7]. Необходимо отметить, что так же, как и при гемофилии А, при гемофилии В выявлена существенная корреляция между повышением активности FIX и улучшением качества жизни пациентов [8].

Ингибиторная форма гемофилии В

Еще одной особенностью гемофилии В является более редкое развитие ингибиторов: они наблюдаются с частотой около 3–5% по сравнению с частотой в 25–30% для гемофилии А [4]. К возможным причинам этого относятся меньшие иммуногенность молекулы FIX и распространенность тяжелой формы заболевания, большая частота ненулевых мутаций. Факторами риска развития ингибиторов являются тяжелая форма заболевания, нонсенс-мутации и

Таблица

Сравнительная характеристика гемофилии А и В. Адаптировано из [4]

Table

Comparison of characteristics of hemophilia A and B. Adapted from [4]

Параметр Parameter	Гемофилия А Hemophilia A	Гемофилия В Hemophilia B
Распространенность Prevalence	1:5000 мужчин 1:5000 males	1:30 000 мужчин 1:30 000 males
Тип наследования Mode of inheritance	X-сцепленный рецессивный X-linked recessive	X-сцепленный рецессивный X-linked recessive
Клиническая картина Clinical symptoms	Суставные кровотечения, кровоизлияния в мышцы и мягкие ткани Joint bleeding, muscle hematoma, soft tissue bleeding	Суставные кровотечения, кровоизлияния в мышцы и мягкие ткани Joint bleeding, muscle hematoma, soft tissue bleeding
Развитие ингибиторов Inhibitor development	25–30%	3–5%
Характеристика фактора свертывания Characteristics of a clotting factor		
Функция Function	Кофактор Co-factor	Фермент Enzyme
Размер гена Gene size	9000 пар нуклеотидов 9000 nucleotide pairs	1500 пар нуклеотидов 1500 nucleotide pairs
Молекулярная масса Molecular weight	280 кДа 280 kDa	55 кДа 55 kDa
Концентрация в плазме крови Normal concentration in plasma	0,1–0,25 мкг/мл 0.1–0.25 µg/mL	3–5 мкг/мл 3–5 µg/mL
Период полувыведения Half-life	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours

крупные делеции гена. В большинстве случаев (до 96% пациентов) ингибиторы выявляются в высоком титре, средний пиковый титр в некоторых исследованиях составлял 36 БЕ [4, 9]. Также к особенностям пациентов с ингибиторной формой гемофилии В относят высокую частоту развития анафилактических реакций, она составляет до 59%. Механизм такого повышения частоты анафилаксии на данный момент не установлен [9].

Имеются свои особенности и в лечении пациентов с ингибиторной формой гемофилии В. Для лечения «по требованию» предпочтителен рекомбинантный активированный фактор свертывания крови VII (rFVIIa), так как антиингибиторный коагулянтный комплекс содержит FIX и может привести к дополнительному образованию ингибитора [9]. Особенно сложную проблему представляет собой подход к индукции иммунологической толерантности (ИИТ) у пациентов с гемофилией В. Консенсуса по поводу оптимальных режимов ИИТ нет, что связано с небольшим количеством доступных данных клинических исследований. Большинство экспертов рекомендуют ИИТ в сочетании с десенсибилизирующей терапией, при этом отмечается, что вероятность успеха существенно ниже по сравнению с гемофилией А: в среднем менее 50% [9]. Кроме того, ИИТ при гемофилии В сопровождается высокой частотой нежелательных явлений (НЯ), прежде всего аллергических реакций разной степени выраженности, которые регистрируются с частотой до 65% [10]. Наиболее опасным осложнением ИИТ является развитие нефротического синдрома. Частота его составляет до 20%, сроки развития – несколько месяцев после начала ИИТ. Ведущими клиническими симптомами являются отеки, гипоальбуминемия, протеинурия. В большинстве случаев ответ на терапию кортикостероидами отсутствует, и требуется прекращение ИИТ. В связи с этим в начале ИИТ у пациентов с гемофилией В необходим особенно тщательный мониторинг для своевременного выявления осложнений [9, 10].

Гемофилия В Лейден

Некоторые генетические варианты гемофилии В представляют особый интерес. К таким относится вариант гемофилии В Лейден, впервые описанный в 1970 г. в г. Лейдене (Голландия) [11]. Особенность этого варианта заключается в том, что у пациентов с гемофилией В, подтвержденной лабораторно, с достижением пубертатного периода активность FIX существенно повышается, а симптомы исчезают [12]. Генетические исследования показали, что у пациентов с этой формой гемофилии имеются мутации в участке ДНК, регулирующем активность гена *F9* (промоторе). Из-за дефекта одного из промоторов

гена *F9* у детей не запускается синтез белка FIX и развиваются симптомы гемофилии. При половом созревании повышается уровень андрогенов, которые выступают в качестве фактора транскрипции. Андрогены активируют другой (неповрежденный) промотор гена *F9* и запускают синтез фактора свертывания. Благодаря этому активность FIX повышается до $\approx 50\%$, симптомы гемофилии полностью исчезают или частота кровотечений существенно снижается. Одна из мутаций *F9* (вариант Бранденбург) поражает именно промотор, активируемый андрогенами. В этом случае синтез FIX после пубертата не восстанавливается и симптомы гемофилии сохраняются [12].

Нерешенные проблемы в лечении гемофилии В

Несмотря на существенный прогресс в доступности безопасных плазматических и рекомбинантных препаратов FIX и повсеместное распространение профилактической терапии, в лечении гемофилии В сохраняется ряд нерешенных проблем. По данным опроса пациентов и гематологов из 6 стран [13], основными сложностями для пациентов с гемофилией В были необходимость частых инфузий, ограничения в повседневной активности, сохранение кровотечений. Основные пожелания пациентов заключались в снижении количества внутривенных введений препаратов и использовании альтернативных путей введения. По мнению врачей, ключевыми нерешенными проблемами были сокращение частоты инфузий, повышение эффективности контроля кровотечений, возможность полного излечения заболевания, альтернативные пути введения, эффективное лечение ингибиторной формы гемофилии В [13].

Современные возможности терапии гемофилии В

Арсенал препаратов для лечения гемофилии В не так широк, как для гемофилии А, хотя за последние годы в этом направлении наметился существенный прогресс. История развития вариантов лечения гемофилии В схематично представлена на *рисунке*.

Достаточно долгое время основным средством для терапии этой группы пациентов в России оставались плазматические препараты FIX. Позднее появились рекомбинантные препараты: в 2014 г. впервые был зарегистрирован рекомбинантный препарат FIX со стандартным периодом полувыведения (нонаког альфа), а в 2021 г. – первый рекомбинантный препарат FIX с пролонгированным периодом полувыведения (албутрепенонаког альфа) [15].

Появление албутрепенонакога альфа является существенным прорывом в лечении пациентов с гемофилией В. Данный препарат представляет собой белок, получаемый с помощью технологии слияния рекомбинантного альбумина с рекомбинантным

FIX. За счет этого достигается удлинение периода его полувыведения [16, 17]. Активность FIX после инфузии албутрепенонакога альфа в стандартной дозировке 50 МЕ/кг на 14-й день не опускается ниже 5,5%, что обеспечивает достаточно надежную защиту от кровотечений [17].

Пролонгированный период полувыведения позволяет увеличить интервалы между введениями препарата в режиме профилактики. Стартовый режим во всех возрастных группах – 1 раз/нед. У пациентов 12 лет и старше при хорошем контроле кровотечений может быть рассмотрен режим введений с интервалом 10 или 14 дней, а у пациентов старше 18 лет – с интервалом 21 день [16].

Результаты клинических исследований подтвердили эффективность препарата в контроле кровотечений в режиме профилактики с увеличенными интервалами введения. В исследовании с участием взрослых и подростков с гемофилией В препарат албутрепенонаког альфа назначался в режиме профилактики с инфузиями 1 раз в 7, 10 или 14 дней. Медианы годовой частоты спонтанных кровотечений (ГЧсК) и годовой частоты кровотечений в суставы (ГЧК в суставы) составили 0 для всех профилактических режимов [18, 19]. У пациентов младше 12 лет наилучшие результаты в отношении контроля кровотечений продемонстрировал режим инфузий 1 раз в 7 дней [20].

Профиль безопасности албутрепенонакога альфа типичен для рекомбинантных препаратов факторов свертывания крови. Большинство НЯ, зафиксированных в ходе применения препарата, были классифицированы как легкие или средней тяжести. У пациентов, ранее получавших терапию FIX, не было выявлено случаев развития ингибиторов

к FIX [18, 20]. Среди 12 пациентов, ранее не получавших терапию FIX, ингибитор развился в 1 случае [21]. Случаев тромботических осложнений выявлено не было. Наиболее частыми НЯ были повышение температуры тела, назофарингит и головная боль [18, 20].

Ребалансирующая терапия гемофилии В

В настоящее время активно изучаются препараты для так называемой ребалансирующей терапии – лекарственные средства, которые не приводят напрямую к замещению дефицита FIX, но изменяют баланс свертывающей системы крови в сторону коагуляции. Преимуществом этих препаратов является их универсальность: они могут применяться вне зависимости от вида гемофилии и от наличия или отсутствия ингибиторов. Кроме того, эти препараты вводятся подкожно, а не внутривенно, что может существенно облегчить пациентам и их родственникам бремя терапии [14]. Некоторые клинические исследования этих препаратов уже закончены, а некоторые находятся в стадии завершения.

Первым препаратом из группы ребалансирующих стал фитусиран – матричная информационная РНК, ингибирующая синтез антитромбина III и снижающая тем самым активность противосвертывающей системы крови. На данный момент опубликованы результаты исследований фитусирана у пациентов с гемофилией А и В старше 12 лет как с ингибиторами, так и без них. Препарат вводился подкожно в дозировке 80 мг 1 раз/мес. Длительность терапии составила 9 мес. В отношении контроля кровотечений препарат продемонстрировал достаточно хорошие результаты: медианы ГЧК, а также ГЧсК и ГЧК в суставы составили 0 вне зависимости от наличия

Рисунок

Прогресс в разработке лекарственных препаратов для лечения гемофилии В. Адаптировано из [14]
 rFIX – рекомбинантный фактор свертывания крови IX; FDA – Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и медикаментов США; EMA – Европейское агентство по лекарственным средствам. * – по данным Государственного реестра лекарственных средств на 02.02.2024

Figure

Progress in the development of drugs for hemophilia B treatment. Adapted from [14]
 rFIX – recombinant blood clotting factor IX; FDA – the United States Food and Drug Administration; EMA – European Medicines Agency. * – according to the State Register of Medicines as of 02.02.2024



ингибиторов. Доля пациентов без кровотечений составила 66% при наличии ингибиторов и 51% без ингибиторов [22, 23]. Также в ходе исследования было отмечено улучшение качества жизни пациентов, по данным опросников. Наиболее частыми НЯ на терапии фитусираном были повышение аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы. В связи с развитием у некоторых пациентов тромботических событий продолжается оценка рисков, связанных с применением препарата.

Другой группой ребалансирующих препаратов являются средства, направленные на регуляцию внешнего коагуляционного пути. Они подавляют ингибитор пути тканевого фактора и тем самым позволяют синтезироваться достаточному количеству тромбина, приводя к формированию стабильного фибринового сгустка. К этой группе препаратов относится концизумаб, марстацимаб, бефовацимаб [24].

В клинических исследованиях препарата концизумаб принимали участие пациенты с гемофилией А и В старше 12 лет как с ингибиторами, так и без них. Программа исследований была временно приостановлена в связи с развитием тромботических событий. Это потребовало пересмотра протоколов клинических исследований и изменения подходов к дозированию препарата. Концизумаб вводился подкожно 1 раз/сут. В 1-е сутки пациенты получали нагрузочную дозу из расчета 1 мг/кг, далее дозировка составляла 0,2 мг/кг/сут. По результатам анализа концентрации препарата в крови спустя 4 нед терапии дозировка могла быть скорректирована в пределах 0,15–0,25 мг/кг.

Пациенты получали терапию концизумабом как минимум в течение 24 нед. За время наблюдения средняя ГЧК на терапии концизумабом в группе пациентов с гемофилией В без ингибиторов составила 3,1, с ингибиторами – 1,7. Доля пациентов без кровотечений составила 64%. Наиболее распространенными НЯ были реакции в месте введения препарата, а также реакции гиперчувствительности. После коррекции протокола исследования и изменений в режиме дозирования новых тромботических осложнений в группе пациентов, получавших концизумаб, отмечено не было [25].

В 2023 г. концизумаб был одобрен в Канаде для лечения пациентов старше 12 лет с ингибиторной формой гемофилии В, став первым препаратом из группы ребалансирующей терапии, разрешенным для применения в реальной клинической практике.

Генная терапия гемофилии В

Принцип проведения генной терапии заключается в доставке генетического материала в клетку для замещения функции неработающего гена. В случае

с гемофилией В ген доставляется в гепатоцит, в котором затем начинается синтез FIX. Стоит отметить, что для генной терапии гемофилии В используется вариант гена *F9* Падуа, который отличается 9-кратно более высокой синтетической активностью по сравнению с диким типом. Таким образом, в организме начинается выработка собственного FIX и, как правило, пациентам больше не требуются дополнительные введения препаратов фактора свертывания крови [26, 27].

На данный момент один из препаратов для генной терапии гемофилии В одобрен FDA и EMA [26].

Клинические исследования показали, что после проведения генной терапии у пациентов с гемофилией В средняя активность FIX поддерживается на уровне около 40%, за период наблюдения в 2 года не отмечено тенденции к снижению активности FIX. Клинические результаты генной терапии свидетельствуют о ее высокой эффективности: отмечено снижение ГЧК на 64%, ГЧсК – на 75%, ГЧК в суставы – на 80%. Наиболее типичными НЯ генной терапии являются повышение аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы, которые наблюдались в 17% и 9% случаев соответственно. Также характерен гриппоподобный синдром, который отмечался в 13% случаев. Данные НЯ были транзиторными [27].

Каким пациентам с гемофилией В может потребоваться смена терапии?

Результаты наблюдательных исследований показывают, что в реальной клинической практике наиболее распространенными причинами для смены терапии у пациентов с гемофилией являются необходимость улучшения защиты от кровотечений, т. е. фактически низкая эффективность лечения (около 60% случаев) и повышение приверженности к терапии за счет снижения количества инфузий (36% случаев) [27].

Самым важным индикатором эффективности гемостатической терапии, согласно клиническим рекомендациям [1, 28], является частота кровотечений, особенно суставных и спонтанных. В российских рекомендациях по лечению гемофилии приведены клинические критерии недостаточной эффективности профилактической терапии: более 2 спонтанных гемартрозов в год, появление признаков хронического синовита или прогрессирования артропатии, возникновение жизнеугрожающих кровотечений [1]. При наличии объективных клинических данных о недостаточной эффективности профилактической терапии при ее строгом соблюдении должно быть принято решение о смене терапии.

Другим важным параметром терапии является частота введений препарата. Именно бремя

внутривенных инфузий – основная причина нарушения режима терапии. По данным отечественных исследований, в России около 33% пациентов нарушают назначенный профилактический режим, ведущей причиной чего являются именно частые инфузии, а также мнение о том, что нарушение режима не приведет к кровотечениям [29]. Согласно результатам опроса пациентов, желание сократить число внутривенных введений – одна из главных причин для переключения на новые препараты для лечения гемофилии [30]. Особенно актуальна эта проблема в педиатрии, так как у пациентов детского возраста использование периферического венозного доступа существенно затруднено из-за малого размера вен, плохой переносимости детьми повторных венопункций, сложностей с обучением опекунов и пациентов выполнению инфузии [1].

Приводим описание 2 клинических случаев пациентов с гемофилией В, наблюдавшихся в Морозовской ДГКБ, которым была рекомендована смена терапии. Родители пациентов дали согласие на использование информации об их детях в научных исследованиях и публикациях.

Клинический случай №1

Мальчик, 2020 года рождения, вес 15 кг. Диагноз: гемофилия В, тяжелая форма. Активность FIX – 0%.

Наследственность отягощена: гемофилией В страдал дедушка по материнской линии. С учетом наследственности уже на 2-й день жизни ребенку была выполнена коагулограмма и установлен диагноз. Вскоре после того, как ребенок начал ходить, в возрасте 8 месяцев, у него развилось первое кровотечение – гематома правого бедра. В связи с этим была начата профилактическая терапия плазматическим препаратом FIX, режим дозирования: 600 МЕ (40 МЕ/кг) 2 раза/нед.

Из-за регулярных внутривенных инфузий к возрасту 3 лет у ребенка возникли существенные трудности с обеспечением венозного доступа. Родителям становилось все сложнее выполнять внутривенные введения препарата, иногда для этого необходимо приезжать в стационар. В результате некоторые введения приходится пропускать, что крайне негативно отражается на соблюдении режима терапии. Контроль кровотечений при этом пока еще удовлетворительный.

В связи с затрудненным венозным доступом для сокращения количества внутривенных инфузий и повышения приверженности к терапии запланирован перевод на препарат албутрепенонаког альфа в режиме 750 МЕ (50 МЕ/кг) 1 раз/нед.

Клинический случай №2

Мальчик, 2014 года рождения, вес 45 кг. Диагноз: гемофилия В, тяжелая форма. Активность FIX – 0,1%.

В семье второй ребенок с гемофилией В. Диагноз установлен в возрасте 8 месяцев во время лечения в Морозовской ДГКБ по поводу обструктивного бронхита. По семейным обстоятельствам ребенку проводилась гемостатическая терапия «по требованию».

В 2015 и 2016 гг. отмечены неоднократные эпизоды кровотечений: гемартрозы правого голеностопного, правого коленного, левого локтевого суставов; гематома правого бедра; почечное и носовое кровотечения.

В 2021 г. ребенок выбыл в другой регион (Тверская область), в связи с чем лечение не проводилось. В июле 2021 г. у него развилось внутримозговое кровоизлияние в левое полушарие, субкортикальное посттравматическое, что привело к правостороннему гемипарезу, который в дальнейшем был купирован на фоне консервативной терапии. По жизненным показаниям пациент госпитализирован в Морозовскую ДГКБ, где была начата активная гемостатическая терапия с введением препарата FIX. После купирования кровотечения ребенок переведен на терапию в режиме профилактики плазматическим препаратом FIX в дозе 2000 МЕ (45 МЕ/кг) 2 раза/нед.

У данного пациента также возникли проблемы с венозным доступом, в связи с чем интервалы между введениями препарата периодически приходилось удлинять. В 2022 г. были отмечены эпизоды кровотечений: гематома правой голени, гематома левой кисти. Кроме того, у пациента отмечены прогрессирование артропатии, а также появление болей в суставах при физической нагрузке. В связи с этим запланирован перевод пациента на препарат албутрепенонаког альфа в режиме дозирования 2250 МЕ (50 МЕ/кг) 1 раз/нед.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последнее время в лечении пациентов с гемофилией в России был достигнут существенный прогресс, который позволил увеличить как продолжительность, так и качество жизни пациентов [29]. Однако в реальной клинической практике лечения гемофилии все еще сохраняется ряд нерешенных проблем, связанных с эффективностью контроля кровотечений, частотой развития и выраженностью артропатий, существенными трудностями выполнения внутривенных инфузий для пациентов и их родственников [31].

При гемофилии В ситуация осложняется тем, что выбор препаратов для лечения этого заболе-

вания существенно меньше по сравнению с гемофилией А. До недавнего времени имелось всего 2 варианта терапии: плазматические препараты FIX и рекомбинантный FIX со стандартным периодом полувыведения [15]. В связи с этим появление в клинической практике в России новых препаратов для лечения гемофилии В, в частности пролонгированного рекомбинантного FIX, позволит существенно расширить возможности лечения пациентов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Zozulya N.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7074-0926>

Andreeva T.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5649-325X>

Zharkov P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

Vdovin V.V. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7912-3707>

Литература

1. Клинические рекомендации. Гемофилия. ID: 127. 2023. Рубрикатор клинических рекомендаций МЗ РФ. [Электронный ресурс] URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/127_2 (дата обращения 02.02.2024). [Clinical guidelines. Hemophilia. ID: 127. 2023. Clinical guidelines of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. [Electronic resource] URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/127_2 (access date 02.02.2024) (In Russ.)].
2. Сайт Всемирной федерации гемофилии. [Электронный ресурс] URL: <https://wfh.org/article/report-on-the-annual-global-survey-2021-now-available/> (дата обращения 02.02.2024) [The World Federation of Hemophilia website. [Electronic resource] URL: <https://wfh.org/article/report-on-the-annual-global-survey-2021-now-available/> (access date 02.02.2024) (In Russ.)].
3. Яфошкина Т.Ю., Флоринский Д.Б., Пшонкин А.В., Федорова Д.В., Поletaев А.В., Серегина Е.А. и др. Оценка чувствительности и специфичности детского опросника кровоточивости при различных геморрагических заболеваниях. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2021; 100 (3): 35–41. [Yafoshkina T.Yu., Florinskiy D.B., Pshonkin A.V., Fedorova D.V., Poletaev A.V., Seregina E.A., et al. Evaluation of the sensitivity and specificity of the Pediatric bleeding questionnaire in various hemorrhagic disorders. *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky* 2021; 100 (3): 35–41. (In Russ.)]
4. Castaman G., Matino D. Hemophilia A and B: molecular and clinical similarities and differences. *Haematologica* 2019; 104 (9): 1702–9.
5. van den Berg H., Alvarez Roman M., Carcao M., Chambost H., Fischer K., Grentenkort-Andersson N., et al. The type and frequency of bleeds in 870 children with severe hemophilia A and B on primary prophylaxis: Data from the PedNet study group [abstract]. [Electronic resource] URL: <https://abstracts.isth.org/abstract/the-type-and-frequency-of-bleeds-in-870-children-with-severe-hemophilia-a-and-b-on-primary-prophylaxis-data-from-the-pednet-study-group> (accessed 02.02.2024).
6. Booth J., Oladapo A., Walsh S. et al. Real-world comparative analysis of bleeding complications and health-related quality of life in patients with haemophilia A and haemophilia B. *Haemophilia*. 2018; 24: e322–e327.
7. Kihlberg K., Baghaei F., Bruzelius M., Funding E., Holme P.A., Lassila R., et al. No difference in quality of life between persons with severe haemophilia A and B. *Haemophilia* 2023; 29: 987–96.
8. Burke T., Shaikh A., Ali T., Li N., Curtis R., Garcia Diego D.-A., et al. Association of factor expression levels with health-related quality of life and direct medical costs for people with haemophilia B. *J Med Econ* 2022; 25 (1): 386–92.
9. Santoro C., Quintavalle G., Castaman G., Baldacci E., Ferretti A., Riccardi F., Tagliaferri A. Inhibitors in Hemophilia B. *Semin Thromb Hemost* 2018; 44 (6): 578–89.
10. Dou X., Zhang W., Poon M., Zhang X., Wu R., Feng X., et al. Factor IX inhibitors in haemophilia B: A report of National Haemophilia Registry in China. *Haemophilia* 2023; 29 (1): 123–34.
11. Veltkamp J., Meilof J., Remmelts H., van der Vlerk D., Loe-liger E.A. Another genetic variant of haemophilia B: haemophilia B Leyden. *Scand J Haematol* 1970; 7 (2): 82–90.
12. Funnell A., Crossley M. Hemophilia B Leyden and once mysterious cis-regulatory mutations. *Trends Genet* 2014; 30 (1): 18–23.
13. Pinachyan K., Sivamurthy K., Bensen-Kennedy D. Unmet needs in hemophilia B: perspectives from people living with hemophilia B, healthcare professionals and the healthcare industry. *Haemophilia* 2022; 28 (S1): P0142.
14. Ozelo M., Yamaguti-Hayakawa G. Impact of novel hemophilia therapies around the world. *Res Pract Thromb Haemost* 2022; 6 (3): e12695.
15. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс] URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (дата обращения 02.02.2024). [State

- Register of Medicines. [Electronic resource] URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (access date 02.02.2024) (In Russ.).
16. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Идельвион, ЛП-007569, дата регистрации 01.11.2021. [Idelvion prescribing information, registration number «ЛП-007569», registration date 01.11.2021. (In Russ.).]
 17. Santagostino E., Negrier C., Klamroth R., Tiede A., Pabinger-Fasching I, Voigt C., et al. Safety and pharmacokinetics of a novel recombinant fusion protein linking coagulation factor IX with albumin (rIX-FP) in hemophilia B patients. *Blood* 2012; 120 (12): 2405–11.
 18. Santagostino E., Martinowitz U., Lissitchkovet T., Pan-Petes B., Hanabusa H., Oldenburg J., et al. Long-acting recombinant coagulation factor IX albumin fusion protein (rIX-FP) in hemophilia B: results of a phase 3 trial. *Blood* 2016; 127 (14): 1761–9.
 19. Mancuso M., Lubetsky A., Pan-Petes B., Lissitchkov T., Nagao A., Seifert W., et al. Long-term safety and efficacy of rIX-FP prophylaxis with extended dosing intervals up to 21 days in adults/adolescents with hemophilia B. *J Thromb Haemost* 2020; 18: 1065–74.
 20. Kenet G., Chambost H., Male C., Halimeh S., Lambert T., Li Y., et al. Long-Term Safety and Efficacy of Recombinant Coagulation Factor IX Albumin Fusion Protein (rIX-FP) in Previously Treated Pediatric Patients with Hemophilia B: Results from a Phase 3b Extension Study. *Thromb Haemost* 2020; 120 (4): 599–606.
 21. Lemons R., Wang M., Curtin J., Huth-Kuehne A., Lepatan L., Male C., et al. Safety and Efficacy of Recombinant Factor IX Fusion Protein (rIX-FP) in Previously Untreated Patients with Hemophilia B. [Electronic resource] URL: <https://abstracts.isth.org/abstract/safety-and-efficacy-of-recombinant-factor-ix-fusion-protein-rix-fp-in-previously-untreated-patients-with-hemophilia-b/> (accessed 02.02.2024).
 22. Srivastava A., Rangarajan S., Kavakli K., Klamroth R., Kenet G., Khoo L., et al. Fitusiran prophylaxis in people with severe haemophilia A or haemophilia B without inhibitors (ATLAS-A/B): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Haematol* 2023; 10 (5): e322–32.
 23. Young G., Srivastava A., Kavakli K., Ross C., Sathar J., You C.-W., et al. Efficacy and safety of fitusiran prophylaxis in people with haemophilia A or haemophilia B with inhibitors (ATLAS-INH): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet* 2023; 401 (10386): 1427–37.
 24. Gualtierotti R., Pasca S., Ciavarella A., Arcudi S., Giachi A., Garagiola I., et al. Updates on Novel Non-Replacement Drugs for Hemophilia. *Pharmaceuticals (Basel)* 2022; 15 (10): 1183.
 25. Jiménez Yuste V., Angchaisuksiri P., Castaman G., Cepo K., Haaning J., Jacobsen S., et al. Concizumab Prophylaxis in Patients With Haemophilia A or B With Inhibitors: Efficacy and Safety Results From the Primary Analysis of the Phase 3 explorer7 Trial. [Electronic resource] URL: <https://abstracts.isth.org/abstract/concizumab-prophylaxis-in-patients-with-haemophilia-a-or-b-with-inhibitors-efficacy-and-safety-results-from-the-primary-analysis-of-the-phase-3-explorer7-trial/> (accessed 02.02.2024).
 26. Heo Y. Etranacogene Dezaparvoec: First Approval. *Drugs*. 2023; 83 (4): 347-352.
 27. Pipe S. Adults with hemophilia B receiving etranacogene dezaparvoec in the HOPE-B phase 3 trial experience a stable increase in mean factor IX activity and durable hemostatic protection after 24 months follow-up. EAHAD 2023. Poster session, P0156.
 28. Srivastava A., Santagostino E., Duggall A., Kitchen S., Sutherland M., Pipe S.W., et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia* 2020; 26 (Suppl 6): 1–158.
 29. Воробьев П.А., Краснова Л.С., Воробьев А.П., Зыкова А.Б., Жулёв Ю.А., Зозуля Н.И. Эпидемиология, экономика и качество жизни больных с гемофилией в России в 2007–2017 гг.: результаты применения стандартизации в терапии. *Проблемы стандартизации в здравоохранении* 2018; 9–10: 15–34. DOI: 10.26347/1607-2502201809-10026-034 [Krasnova L.S., Vorobyev A.P., Zyкова A.B., Zhulyov Yu.A., Zozulya N.I. Epidemiology, economics and quality of life of patients with hemophilia in Russia for 2007–2017: results of standardization use in therapy. *Problems of Standardization in Healthcare* 2018; 9–10: 15–34. (In Russ.).]
 30. von Mackensen S., Kalnins W., Krucker J., Weiss J., Miesbach W., Albisetti M., et al. Hemophilia patients' unmet needs and their expectations of the new extended half-life factor concentrates. *Haemophilia* 2017; 23: 566–74.
 31. Зозуля Н.И., Димитриева О.С. Нерешенные вопросы лечения взрослых пациентов с гемофилией А. *Терапевтический архив* 2022; 94 (1): 77–82. DOI: 10.26442/00403660.2022.01.201321 [Zozulya N.I., Dimitrieva O.S. Unsolved issues of treatment of adult patients with hemophilia A. *Therapeutic Archive* 2022; 94 (1): 77–82. (In Russ.).]

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 09.02.2024
Принята к печати 01.03.2024



EDN: LKMDLC

Контактная информация:

Полетаев Александр Владимирович,
и. о. заведующего лабораторией
клинического гемостаза ФГБУ «НМИЦ
ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава
России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: poletaev_alexandr@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-200-210

Современные аспекты диагностики гемофилии А

А.В. Полетаев¹, Е.А. Серёгина^{1,2}, 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

В последние годы происходит стремительная эволюция лечения гемофилии А, появляется все больше препаратов как факторной, так и нефакторной терапии. Одной из важных проблем заместительной факторной терапии является относительно короткий период полувыведения фактора свертывания крови VIII (FVIII), составляющий в среднем 8–12 ч, что вынуждает пациентов, особенно детского возраста, вводить препарат достаточно часто (3–4 раза/нед), снижая качество жизни и приверженность к терапии. Появление рекомбинантных препаратов FVIII с увеличенным периодом полувыведения позволяет уменьшить количество инфузий, улучшая качество жизни пациентов без снижения безопасности и эффективности. Однако особенности структуры данных препаратов приводят к изменению результатов лабораторных исследований активности FVIII, проводимых для контроля эффективности терапии. В данной статье мы рассмотрим современные методы лабораторного контроля доступных на сегодняшний день препаратов с увеличенным периодом полужизни FVIII в России, оценим степень расхождения между одностадийным клоттинговым и хромогенным методами для каждого препарата, а также возможности лаборатории в мониторинге нефакторной и сочетанной терапии гемофилии А.

Ключевые слова: гемофилия А, фактор, заместительная терапия, диагностика

Полетаев А.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 200–10. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-200-210

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 09.02.2024
Accepted 01.03.2024

Modern aspects of hemophilia A diagnosis

A.V. Poletaev¹, E.A. Seregina^{1,2}, P.A. Zharkov¹

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

²Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

The evolution of hemophilia treatment is rapidly developing. Both new factor replacement and non-factor therapy have appeared in recent years. One of the most important problems of factor replacement therapy is the relatively short half-life of coagulation factor VIII (FVIII), with an average of about 8–12 hours in adults, ranging in individual patients between 6 and 24 hours, and even shorter in younger children. This forces patients, especially children, to administer the drug quite often (3–4 times a week), reducing the quality of life and adherence to treatment. The appearance of recombinant FVIII products with an increased half-life allows to reduce the number of infusions per week, improving the quality of life of patients without compromising the safety and efficacy of treatment. However, the structure of these products leads to the changes in the results of laboratory tests of FVIII activity carried out to monitor the efficacy of treatment. In this article, we will consider the current methods of laboratory control of products with an increased half-life of FVIII currently available in Russia. We want to assess the discrepancy between the one-stage clotting method and chromogenic method for each FVIII product, as well as the laboratory's capabilities in monitoring non-factor and combined therapy for hemophilia A.

Key words: hemophilia A, coagulation factor, factor replacement therapy, diagnosis

Poletaev A.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 200–10.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-200-210

Гемофилия А – наследственное X-сцепленное геморрагическое заболевание, обусловленное дефицитом фактора свертывания VIII (FVIII) [1]. FVIII представляет собой крупный белок свертывающей системы крови, циркулирующий в комплексе с фактором Виллебранда (vWF). vWF стабилизирует и защищает FVIII от протеолиза, облегчая доставку последнего к месту повреждения [2]. Определение активности FVIII крайне важно для постановки диагноза, так как степень тяжести заболевания устанавливается на основании активности FVIII у пациента [3]. В зависимости от тяжести заболевания пациент получает соответствующую терапию, для оценки эффективности которой также необходим лабораторный контроль. Как показывают исследования,

существуют индивидуальные различия в фармакокинетике концентратов факторов свертывания, и часть пациентов нуждаются в персонализированном подборе доз и кратности введений препарата, основанных на лабораторном контроле, для достижения отсутствия кровотечений [4, 5]. Фармакокинетический контроль также крайне полезен при проведении оперативных вмешательств у пациентов с гемофилией, что позволяет эффективно и экономно использовать концентраты факторов свертывания без увеличения риска развития кровотечений [6]. Появление концентратов с увеличенным периодом полувыведения в плазме позволило сократить количество введений в неделю, но вызвало ряд вопросов в выборе методов лабораторной диагностики данных

препаратов [7]. В 2018 г. в России был одобрен для применения у пациентов с гемофилией препарат нефакторной терапии – эмицизумаб, который представляет собой химерное биспецифическое моноклональное антитело, являющееся миметиком FVIII, связывающее между собой факторы IX (FIX) и X (FX), опосредуя активацию последнего. Эмицизумаб вводится подкожно, время полужизни составляет 4–5 нед, препарат не нейтрализуется антителами против FVIII [8]. Однако поскольку механизм действия эмицизумаба отличается от FVIII, имеет значение выбор лабораторной методики для контроля эффекта препарата и мониторинга активности эндогенного FVIII и титра ингибитора у пациентов [9]. В большинстве случаев рутинный мониторинг эмицизумаба не требуется, но существуют определенная категория пациентов и состояния, при которых лабораторный контроль может быть полезен: при хирургических вмешательствах, при применении комбинации препаратов, в том числе при назначении шунтирующей терапии, или при недостаточной клинической эффективности эмицизумаба [10]. Другие новые подходы к терапии пациентов с гемофилией – использование ребалансирующих препаратов – также представляют проблему для лабораторий, так как данная терапия направлена на изменение гемостатического баланса и повышение наработки тромбина за счет снижения активности естественных антикоагулянтов [11]. Таким образом, использование в лечении концентратов EHL и нефакторной терапии, а также сочетания препаратов требует четкого понимания возможностей различных лабораторных тестов в диагностике и терапевтическом

мониторинге пациентов, получающих ту или иную терапию.

Определение активности FVIII

Основными методиками, позволяющими определить уровень FVIII, являются одностадийный клоттинговый (ОКМ) и хромогенный (ХМ) методы (рисунки 1, 2). ОКМ является модификацией активированного частичного тромбопластного времени (АЧТВ) с добавлением субстратной дефицитной плазмы по FVIII. Различные реагенты теста АЧТВ обладают разной чувствительностью и специфичностью по определению FVIII [12]. ХМ не требует дефицитной плазмы для проведения анализа, он основан на генерации активированного FX, количество которого пропорционально количеству исследуемого фактора [13]. Обе методики могут быть использованы для диагностики, определения тяжести, оценки эффективности концентратов FVIII, в том числе и пролонгированного действия, однако полученные результаты могут различаться [14–16]. По данным европейской программы внешней оценки качества в области гемостаза, из 214 лабораторий-участниц 193 (90,2%) используют в своей практике ОКМ и лишь 13 (6,1%) – ХМ [17]. Таким образом, ОКМ является наиболее распространенным методом определения активности FVIII.

Одностадийный клоттинговый метод

Одноэтапный анализ активности FVIII (ОКМ) основан на тесте АЧТВ. АЧТВ является скрининговым

Рисунок 1

Принцип ОКМ определения активности FVIII (адаптировано из [18])

FXIa – активированный фактор свертывания XI; FIXa – активированный FIX; FVIIIa – активированный FVIII; FXa – активированный FX; FVa – активированный фактор свертывания V; FII – фактор свертывания II; ФЛ – фосфолипиды; CaCl₂ – хлорид кальция

Figure 1

Schematics of FVIII activity measurement in a one-stage clotting assay (OSA) (adapted from [18])

FXIa – activated factor XI; FIX – factor IX; FIXa – activated factor IX; FVIII – factor VIII; FVIIIa – activated FVIII; FX – factor X; FXa – activated FX; FVa – activated factor V; FII – factor II; PL – phospholipid; CaCl₂ – calcium chloride

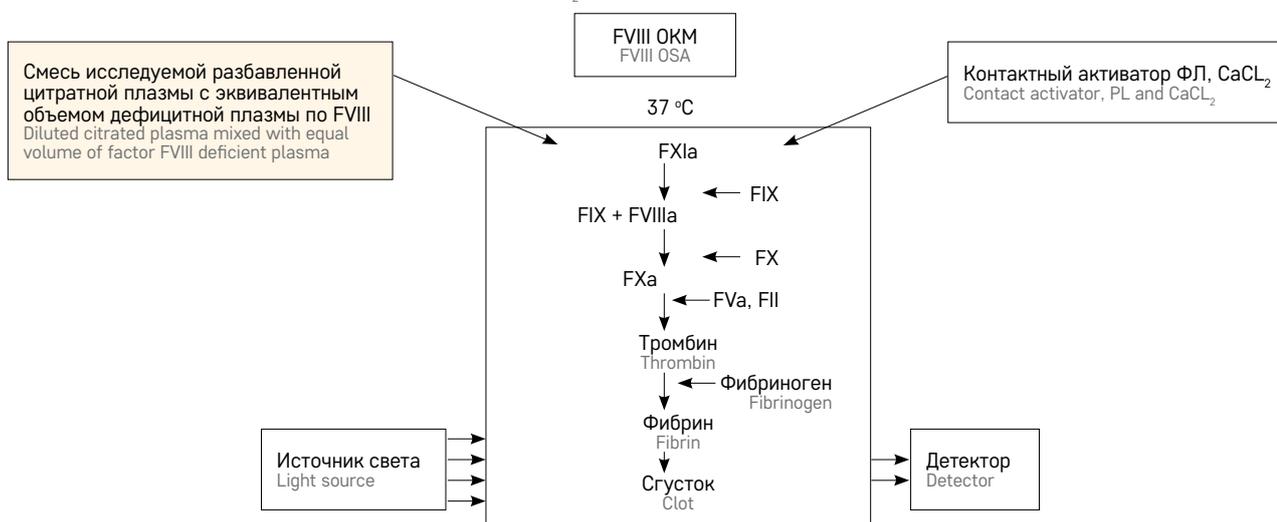
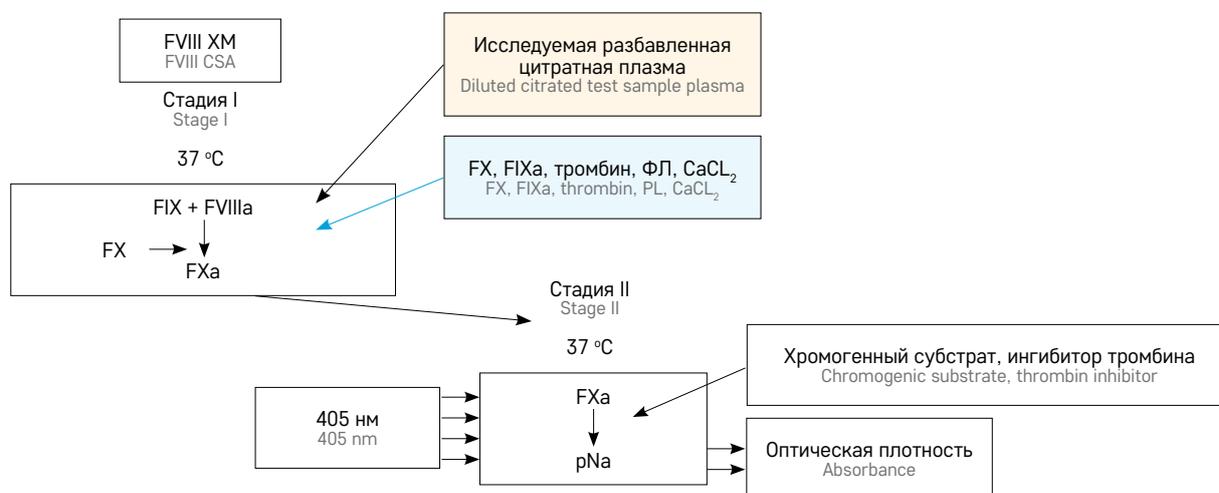


Рисунок 2
Принцип ХМ определения активности FVIII (адаптировано из [18])
pNA – паранитроанилин

Figure 2
Schematics of FVIII activity measurement in a chromogenic substrate assay (CSA) (adapted from [18])
pNA – para-nitroaniline



тестом для оценки внутреннего каскада свертывания, позволяет оценить наличие дефицита FVIII, FIX, FXI, FXII, а также присутствие специфических ингибиторов любого из факторов и неспецифических ингибиторов, таких как волчаночный антикоагулянт (ВА). До настоящего времени нет системы стандартизации теста АЧТВ, приборная и реагентная базы теста не позволяют сделать это. Поэтому рекомендуется пользоваться реактивами одного производителя в соответствии с используемым оборудованием [19]. В норме время свертывания в тесте АЧТВ составляет от 20 до 40 с, зависит от используемых наборов реагентов и удлиняется при снижении активности факторов внутреннего пути менее 30% [20]. Методология одностадийного анализа основана на смешивании плазмы пациента с плазмой, дефицитной по исследуемому фактору, с последующим определением времени свертывания смеси и аппроксимации полученного времени свертывания на калибровочную кривую. Дефицитная плазма является важнейшим компонентом одностадийного анализа, и результаты напрямую будут зависеть от качества последней [21].

Хромогенный метод

ХМ определения активности факторов (двухэтапный) может измерять активность FVIII, FIX [13, 22, 23]. На первом этапе плазма смешивается с активаторами (CaCL₂, тромбин, FIX), что приводит к наработке большого количества активного FXa, количество которого пропорционально уровню исследуемого фактора. После инкубации на втором этапе добавляется специфический хромогенный субстрат, который расщепляется активным FXa. ХМ не требует наличия дефицитной плазмы, менее подвержен

интерференции, на результат не влияет присутствие неспецифических ингибиторов (ВА) [24].

Выбор теста определения активности факторов

ОКМ является наиболее распространенным среди лабораторий как в России, так и за рубежом [17]. Преобладание ОКМ связано с различными факторами. Исторически ОКМ является базовым для многих лабораторий исследования гемостаза, и у специалистов лабораторной диагностики накопился колоссальный опыт постановки ОКМ как на автоматических, так и на полуавтоматических коагулометрах. Данный метод относительно дешев, доступен для выполнения в режиме 24/7, имеется опыт оценки полученных результатов клиницистами. ХМ многими воспринимается как более сложный и менее быстрый, на самом же деле современные наборы позволяют получать результаты примерно с одинаковыми временными затратами в сравнении с ОКМ. К несомненным преимуществам ХМ относится отсутствие чувствительности к эффекту ВА, что бывает весьма немаловажным [24]. Стоимость одного теста ХМ выше, чем стоимость ОКМ, однако рациональный подход лаборатории к планированию исследований путем замораживания и накопления проб пациентов с одномоментной периодической постановкой, или аликвотирование и замораживание реагентов, делает стоимость ОКМ и ХМ сопоставимой [25]. Британский комитет по стандартизации в гематологии, Всемирная федерация гемофилии и Северный совет по гемофилии рекомендуют использовать оба метода, в зависимости от диагностических возможностей лаборатории, для скрининга и диагностики нетяжелой гемофилии [26–28]. Российские клинические реко-

мендации по лечению гемофилии не акцентируют выбор методики для постановки диагноза, но для контроля терапии рекомендуют использовать анализ, утвержденный для каждого препарата [29]. Такой подход связан с различиями в рекомендациях по маркировке препаратов для заместительной терапии. Так, Европейская фармакопея рекомендует использование ХМ для препаратов FVIII, в то время как Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США – ОКМ [30, 31].

Различия в результатах одностадийного клоттингового и хромогенного методов

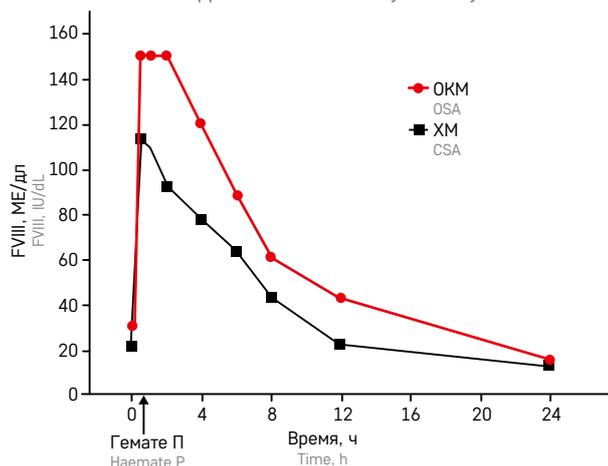
Анализы ОКМ и ХМ могут давать разные результаты активности FVIII для одного и того же образца. В большинстве случаев такая разница вызвана погрешностью между измерениями, основанными на разных реагентах. Это может свидетельствовать об аналитическом различии тестируемого образца и стандарта FVIII, когда образец представляет собой рекомбинантный препарат FVIII, а стандарт – лиофилизированную плазму. В таких случаях результаты анализов могут иметь значимые расхождения [32]. Такое расхождение мы наблюдали при исследовании фармакокинетики у пациента с тяжелой формой гемофилии А, который находился на индукции иммунной толерантности препаратом vWF + FVIII в соотношении 2,4:1 (рисунки 3).

Наибольшие различия наблюдались в первых 3 точках исследования, затем отмечалось постепенное уменьшение различий результатов ОКМ и ХМ по мере снижения концентрации препарата в крови пациента.

Рисунок 3
Активность FVIII до и после инфузии пациенту с гемофилией А препарата vWF + FVIII в соотношении 2,4:1

Активность 150% в первых 3 точках после инъекции препарата обусловлена верхней границей линейности теста

Figure 3
FVIII activity before and after the injection of von Willebrand factor + FVIII replacement product (ratio 2.4:1) in a patient with hemophilia A
FVIII activity level of 150% at the first 3 points after the injection is associated with the upper limit of the assay linearity



Учитывая распространенность, ОКМ используется для диагностики гемофилии в большинстве случаев, однако по результатам множества исследований Испании, Дании, Франции, Великобритании и Германии показана целесообразность применения обоих методов. Так, расхождение между результатами ОКМ и ХМ составило 10–51% у пациентов с нетяжелой гемофилией. Учитывая зависимость тяжести заболевания от степени глубины дефицита FVIII, такое расхождение может быть критически важным [33]. Различия в результатах ОКМ и ХМ могут быть разнонаправленными. В некоторых случаях отмечаются более высокие результаты активности FVIII в ОКМ по сравнению с ХМ. Возможно, это связано с определенными мутациями FVIII, при которых образующийся активный гетеротример является нестабильным и быстро диссоциирует, уменьшая количество образованного активного FVIII. Длительность инкубации в ХМ значительно больше, чем в ОКМ (10–12 мин в ХМ против 3 мин в ОКМ), что и является причиной снижения активности в ХМ по сравнению с ОКМ [34]. В другом случае наблюдаются более высокие результаты в тесте ХМ по сравнению с ОКМ и вызваны мутациями в сайтах связывания тромбина или активного FIXa. При данных типах мутаций более длительная инкубация ХМ и супрафизиологические концентрации активаторов приводят к получению более высоких результатов активности по сравнению с ОКМ [35]. В данном случае клинический фенотип обычно соотносится с более низкими уровнями активности.

Тест генерации тромбина

Автоматический тест генерации тромбина (ТГТ) был разработан Hemker и соавт. в 2003 г. и достаточно активно используется за рубежом как в научной, так и в клинической практике [36, 37]. Использование ТГТ позволяет оценить баланс системы гемостаза в целом. Метод основан на активации тромбина тканевым фактором в присутствии кальция и фосфолипидов и измерении протеолитической активности тромбина на добавленном флуоресцентном субстрате [38]. В ТГТ обычно используются 4 основных параметра: время задержки, время достижения пика тромбина, максимальная амплитуда генерации тромбина и эндогенный тромбиновый потенциал [36]. Еще один дополнительный параметр, скорость генерации тромбина, позволяет оценить выработку достаточного количества тромбина за короткий промежуток времени. Предполагается, что данный параметр лучше коррелирует с активностью FVIII и более полезен в клинической практике [39].

Количество добавляемого тканевого фактора может варьировать в достаточно широких пределах и зависит от поставленной задачи. Так, низкие

концентрации (< 1 мкМоль) больше подходят для низких уровней фактора и обычно используются в отдельных центрах для контроля лечения концентрациями факторов, шунтирующей терапии [40]. Высокие концентрации тканевого фактора могут приводить к истощению субстрата, особенно в сочетании с шунтирующими препаратами (ШП) [41, 42]. Для постановки исследования ТГТ возможно использование бедной и обогащенной тромбоцитами плазмы. Чаще всего используется бедная тромбоцитами плазма ввиду возможности ее замораживания и постановки большего количества образцов за раз, что сильно экономит реагенты и время. Однако результаты определения ТГТ в обогащенной тромбоцитами плазме демонстрируют более реалистичные данные, так как тромбоциты также являются важным звеном в осуществлении реакций системы гемостаза [43].

Тромбоэластография/тромбоэластометрия

Метод тромбоэластографии (ТЭГ) относится к глобальным методам оценки гемостаза и впервые описан в 1938 г. Hartret [44]. Метод позволяет оценивать процессы образования и лизиса сгустка посредством измерения вязкоупругих свойств цельной крови [45, 46]. На сегодняшний день существуют 2 современные модификации – TEG и ROTEM, которые позволяют получать результаты, отображающие инициацию, распространение, стабилизацию и в определенных случаях лизис сгустка [47]. Параметры, получаемые с помощью обоих приборов, считаются сопоставимыми, хотя и не взаимозаменяемыми напрямую. Существует несколько вариантов постановки исследования: нативная в цитратной крови без добавления активатора; с активацией внутреннего пути каолином (TEG) или эллаговой кислотой (ROTEM); с активацией внешнего пути

только для ROTEM, тогда как у TEG существует модификация RapidTEG с одновременной активацией каолином, так и тканевым фактором [47]. На данный момент комитет по стандартизации SSC Международного общества по тромбозу и гемостазу рекомендует использовать методики с активацией внутреннего пути для рутинного клинического применения [48].

Влияние препаратов пролонгированного действия на лабораторные тесты

Известной проблемой заместительной терапии гемофилии является короткий период полувыведения FVIII, который варьирует от 8 до 12 ч. Для увеличения времени полувыведения FVIII и, как следствие, для уменьшения количества введений препарата были разработаны новые концентраты с увеличенным периодом полувыведения. Текущие препараты пролонгированного действия имеют значительные изменения молекулы FVIII, которые включают ковалентное присоединение фактора свертывания к полиэтиленгликолю (пегилирование) для уменьшения взаимодействия с рецептором клиренса; интеграцию фактора свертывания с фрагментом Fc молекулы IgG1 для снижения лизосомальной деградации и замедления клиренса; связывание фактора с рекомбинантным альбумином; одноцепочечную технологию для повышения стабильности молекулы [49, 50].

Доступные для пациентов на текущий момент на территории Российской Федерации препараты пролонгированного действия представлены в таблице.

Единственным доступным для лекарственного обеспечения в рамках программы высокочрезвычайных нозологий на территории нашей страны концентратом пролонгированного действия является эфмороктоког альфа. Измерение активности концентратов пролон-

Таблица

Препараты пролонгированного действия и препараты с увеличенным периодом полувыведения, доступные в Российской Федерации [51–54]

Table

Long-acting and extended half-life products available in the Russian Federation [51–54]

Препарат Product	Особенности молекулы Features of the molecule	Коммерческое название Trade name	Период полувыведения в зависимости от возраста пациента, ч Half-life depending on the patient's age, hours			
			< 6 лет < 6 years	6–12 лет 6–12 years	12–18 лет 12–18 years	Взрослые Adults
Эфмороктоког альфа Efmorotocog alfa	Рекомбинантный FVIII с усеченным В-доменом, ковалентно связанный с Fc-доменом человеческого IgG1 B domain truncated recombinant FVIII covalently linked to the Fc domain of human IgG1	Элоктейт® Eloctate®	12,3** 14,3***	13,5** 15,9***	16** 17,5**	19** 20,9***
Руриоктоког альфа пэгол Ruriotocog alfa pegol	Пэгилированная форма рекомбинантного FVIII Pegylated form of recombinant FVIII	Аденовейт® Adynovate®	12,99***	11,93***	13,8***	15,01***
Симоктоког альфа* Simotocog alfa*	FVIII человеческий рекомбинантный Recombinant human FVIII	Нувиқ® Nuwiq®	11,9** 9,5***	13,1** 10***	17,1** 14,7***	
Лоноктоког альфа* Lonotocog alfa*	Одноцепочечный рекомбинантный FVIII Single-chain recombinant FVIII	Афстила® Afstyla®	10,4***	10,2***	14,3***	14,2***

Примечание. * – лоноктоког альфа и симоктоког альфа не отвечают критериям пролонгированных препаратов и являются препаратами с увеличенным периодом полувыведения за счет свойств молекулы FVIII; ** – период полувыведения препарата при использовании ОКМ; *** – период полувыведения препарата при использовании ХМ.

Note. * – lonotocog alfa and simotocog alfa do not meet the criteria of long-acting products and are products with an extended half-life due to the properties of the FVIII molecule; ** – half-life of a product measured using the OSA; *** – half-life of a product measured using the CSA.

гированного действия в плазме обычно дает значения активности, измеренной ОКМ, на 20–60% ниже активности, полученной ХМ. Причем эта разница в активности варьирует в зависимости от типа молекулы. В исследовании Lancellotti и соавт. при сравнении результатов 3 вариантов тест-систем ОКМ и 2 вариантов ХМ было показано, что наилучшей чувствительностью к определению различных концентраций препаратов обладают методики, калиброванные с использованием концентратов пролонгированного действия FVIII. Если использовать стандартные калибровки на плазматическом FVIII, результаты варьируют для разных препаратов. Так, эфморктоког альфа продемонстрировал правильное измерение только ОКМ с эллаговой кислотой. Наиболее распространенный вариант теста с кварцевым активатором продемонстрировал значительное завышение результатов. В случае с ХМ эфморктоког альфа продемонстрировал разнонаправленные результаты для разных концентраций. Измеренная активность FVIII в образцах с добавлением руриоктокога альфа соответствовала ожидаемой активности для всех методов, за исключением ОКМ с эллаговой кислотой, который значительно снизил полученные результаты во всех концентрациях. Для туроктокога альфа расхождения активности наблюдались для ОКМ с эллаговой кислотой и для обоих тестов ХМ [55]. В исследовании Ketteler и соавт. при использовании ОКМ измеренная активность FVIII была близка к расчетной активности для большинства препаратов пролонгированного действия, за исключением лоноктокога альфа, для которого выявлено значительное снижение активности при использовании ОКМ. Однако при сравнении 2 методик также были выявлены расхождения в результатах для всех исследуемых концентратов [56]. Учитывая накопленный опыт применения препаратов пролонгированного действия, Центр гемофилии Соединенного Королевства представил руководство по лабораторному мониторингу заместительной терапии при гемофилии. В данном руководстве представлены рекомендуемые методики для различных препаратов, а также те наборы и методы, от использования которых лучше воздержаться. Для большинства препаратов возможно использование 2 методик, самым универсальным в плане выбора реагентов для ОКМ является эфморктоког альфа, для остальных препаратов есть ограничения. Для лоноктокога альфа использование ОКМ изначально не рекомендуется, но в случае отсутствия ХМ в лаборатории необходимо умножить результат на коэффициент 2 для получения истинного уровня FVIII у пациента [57]. Использование глобальных тестов гемостаза для оценки эффективности заместительной терапии концентратами факторов свертывания активно применяется зарубежными специалистами вслед-

ствие большей доступности методик, в частности ТГТ. Большое количество исследований продемонстрировали сильную корреляционную зависимость между активностью FVIII и параметрами ТГТ [40, 41, 58, 59]. Исследователи отмечали значительную вариабельность в результатах между пациентами после инфузии стандартных доз препаратов FVIII, что обусловлено, скорее всего, индивидуальными особенностями биохимии свертывания каждого конкретного пациента [59]. Исследование van Veen и соавт. продемонстрировало, что некоторые пациенты могут генерировать нормальный уровень тромбина при снижении активности FVIII, тогда как другие имеют снижение генерации тромбина при нормальных значениях FVIII [41]. Схожие результаты были получены при использовании ТЭГ, которые показали, что пациенты с тяжелой формой гемофилии А имеют разный клинический фенотип, коррелирующий с параметрами ТЭГ. Пациенты с легким фенотипом и отсутствием гемартрозов в анамнезе имели лучшие параметры образования сгустка по сравнению с пациентами с более тяжелым фенотипом [60]. Обе методики могут быть полезны в оценке эффективности заместительной терапии в сложных клинических случаях, при необходимости индивидуального подбора доз концентрата.

Нефакторная терапия

Появление эмицизумаба произвело настоящую революцию в лечении тяжелой гемофилии А, особенно ингибиторной формы [61]. Но в то же время поставило новые задачи перед лабораторией – встал вопрос о необходимости контроля эмицизумаба у определенных групп пациентов и выбора лабораторных тестов [10]. В 2022 г. Совет экспертов России опубликовал методические рекомендации по ведению больных гемофилией А, получающих эмицизумаб. Согласно рекомендациям, лабораторный мониторинг концентрации эмицизумаба для контроля эффективности или рутинного решения вопроса о лечебной тактике при развитии кровотечения не требуется. Эффективность терапии оценивается только на основании клинической картины. При появлении у пациента спонтанных кровотечений и нарастании их частоты рекомендуется измерить АЧТВ, при удлинении рекомендуется обратиться в экспертные центры по лечению гемофилии для принятия решения по дальнейшей тактике терапии [62]. Это обусловлено тем, что рутинные тесты, такие как АЧТВ, активность FVIII и титр ингибитора FVIII, оказались неинформативными для контроля за этими пациентами из-за особенности действия эмицизумаба, который не нуждается в генерации тромбина для связывания с FIX и FX. Это приводит к укорочению времени АЧТВ и значительному завышению актив-

ности FVIII, измеренной ОКМ [9, 63]. На сегодняшний день единственная методика, позволяющая оценить концентрацию эмицизумаба, – модифицированный ОКМ, откалиброванный с помощью эмицизумаба [64]. Данная методика позволяет оценить, находится ли концентрация препарата в крови пациента в пределах диапазона клинической эффективности эмицизумаба (30–70 мкг/мл) [65]. При необходимости оценки собственной активности FVIII и титра ингибитора необходимо использовать ХМ с бычьими компонентами, которые нечувствительны к эффекту эмицизумаба [9]. Наиболее оптимальной стратегией лабораторной диагностики считается использование ХМ с бычьими компонентами и модифицированного ОКМ [66]. Однако данная стратегия актуальна только при монотерапии эмицизумабом, в случае назначения пациенту концентратов факторов свертывания (при травме, оперативном вмешательстве) результаты лабораторных тестов будут искажаться [9, 67]. В таком случае более предпочтительным будет использование глобальных тестов гемостаза, ТГТ и ТЭГ, которые позволяют оценить общий гемостатический потенциал крови [63]. Использование ТГТ при монотерапии эмицизумабом не совсем информативно, так как уровень генерации тромбина у пациентов с гемофилией А соответствовал уровню эквивалентной активности FVIII 10–40%, и, хотя концентрация эмицизумаба имела линейную корреляцию с уровнем вырабатываемого тромбина, во многих исследованиях показано отсутствие разницы ТГТ в группах пациентов с кровоточивостью и без [10, 68, 69].

Применение эмицизумаба и препаратов шунтирующего действия

Первое применение эмицизумаба было одобрено у пациентов с ингибиторной формой гемофилии, контроль терапии которых и так был не совсем решенной проблемой вследствие сложности лабораторного мониторинга ШП. Стандартные клоттинговые тесты меняются под действием ШП, однако изменения часто не коррелируют с гемостатическим эффектом [70–72]. Наиболее подходящими для контроля оказались глобальные тесты, позволяя даже титровать дозу препарата во время операции, что минимизирует риски развития нежелательных явлений, с одной стороны, и экономит расход дорогостоящего препарата – с другой [73, 74]. Использование концентратов FVIII и ШП на фоне применения эмицизумаба у пациентов с ингибиторной формой гемофилии А необходимо при развитии кровотечений или в качестве дополнительной профилактики при оперативных вмешательствах [62]. При введении FVIII обладает большим сродством к FIX/FX, что обуславливает отсутствие дополнительного гемостатического эффекта [75]. Для пациентов с ингибиторной

формой гемофилии препаратом первой линии является активированный рекомбинантный фактор свертывания VII (rFVIIa), оценка эффективности основывается на клинической картине [62]. Было показано, что применение максимально возможных доз rFVIIa не приводит к увеличению генерации тромбина выше нормальных значений [76]. В случае сохранения признаков кровотечения рекомендуется использование препарата второй линии – активированного концентрата протромбинового комплекса (АКПК) в дозировке < 50 Ед/кг/раз и < 100 Ед/кг/сут, так как даже доза 25 Ед/кг вызывала повышение уровня тромбинового потенциала выше нормальных значений в несколько раз [62, 77]. Использование высоких доз АКПК (> 100 ед/кг/сут) может приводить к развитию тромботических осложнений у пациентов [78]. Hartman и соавт. продемонстрировали, что значительное усиление свертывания на фоне введения АКПК связано с наличием в последнем FIX и FX, которые усиливают синергетический эффект эмицизумаба [79]. В зарубежной литературе достаточно работ, посвященных контролю сочетанной терапии с помощью ТГТ, которые и позволили определить максимально допустимую дозу АКПК у пациентов, получавших эмицизумаб, без риска развития тромботических осложнений [80, 81]. Параметры ТЭГ у пациентов стремились к нормальным значениям уже спустя неделю от первого введения [82]. Дополнительное введение rFVIIa не вносило существенных изменений в параметры ТЭГ, тогда как использование даже небольших доз АКПК приводило к резкому укорочению времени свертывания в тромбоэластометрии [83].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на стремительное развитие и распространение препаратов нефакторной терапии для лечения гемофилии, заместительная терапия концентратами факторов свертывания является актуальной и перспективной. Препараты пролонгированного действия являются предпочтительными, так как снижение количества инфузий в неделю значительно повышает приверженность пациентов к лечению, улучшает качество их жизни без повышения риска развития жизнеугрожающих кровотечений. Для осуществления лабораторного контроля препаратов пролонгированного действия хромогенные анализы являются более предпочтительными, но возможно использование одностадийного метода при условии использования калибровочной кривой для конкретного препарата. При этом наиболее универсальным в плане выбора метода определения активности FVIII является препарат эфмороктоког альфа. В сложных клинических ситуациях возможно использование ТГТ

и ТЭГ как дополнительных методик оценки эффективности терапии. Для лабораторного контроля эмицизумаба необходимо использовать модифицированный ОКМ со специальным калибратором или ХМ с человеческими реагентами. Определение собственной активности FVIII и титра ингибитора у пациентов, находящихся на терапии эмицизумабом, возможно с помощью ХМ с бычьими компонентами. Использование стандартного ОКМ определения активности FVIII в присутствии эмицизумаба недопустимо. Для контроля новой ребалансирующей и сочетанной факторной/терапии ШП и нефакторной терапии возможно использование глобальных тестов гемостаза – ТЭГ или ТГТ, однако четкие рекомендации по использованию данных тестов отсутствуют.

Необходимы дальнейшие исследования для оптимизации и стандартизации лабораторных анализов для правильного измерения и контроля современной терапии пациентов с гемофилией.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Poletaev A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5209-2099>

Seregina E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7534-3863>

Zharkov P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

Литература

1. Румянцев А.Г., Масчан А.А., Вдовин В.В., Свиринов П.В. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению детей с гемофилией А, гемофилией В и болезнью Виллебранда. М.; 2015. [Rumyantsev A.G., Maschan A.A., Vdovin V.V., Svirin P.V. Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of children with hemophilia A, hemophilia B and von Willebrand disease. Moscow; 2015. (In Russ.)].
2. Terraube V., O'Donnell J.S., Jenkins P.V. Factor VIII and von Willebrand factor interaction: biological, clinical and therapeutic importance. *Haemophilia* 2010; 16 (1): 3–13.
3. Srivastava A., Santagostino E., Duggall A., Kitchen S., Sutherland M., Pipe S.W., et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia* 2020; 26 Suppl 6: 1–158.
4. Björkman S., Folkesson A., Jönsson S. Pharmacokinetics and dose requirements of factor VIII over the age range 3–74 years: A population analysis based on 50 patients with long-term prophylactic treatment for haemophilia A. *Eur J Clin Pharmacol* 2009; 65 (10): 989–98.
5. Björkman S., Blanchette V.S., Fischer K., Oh M., Spotts G., Schroth P., et al. Comparative pharmacokinetics of plasma- and albumin-free recombinant factor VIII in children and adults: the influence of blood sampling schedule on observed age-related differences and implications for dose tailoring. *J Thromb Haemost* 2010; 8 (4): 730–6.
6. Калинина М.П., Пшонкин А.В., Грачёв Н.С., Полетаев А.В., Федорова Д.В., Жарков П.А. Псевдоопухоль верхней челюсти у ребенка первого года жизни как первое проявление гемофилии В. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2021; 20 (1): 156–9. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-156-159 [Kalinina M.P., Pshonkin A.V., Grachev N.S., Poletaev A.V., Fedorova D.V., Zharkov P.A. Pseudotumor of the maxilla as first presentation of hemophilia B in a 1-year-old male. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2021; 20 (1): 156–9. (In Russ.)].
7. Collins P., Chalmers E., Choudhary P., Keeling D., Mathias M., O'Donnell J., et al. The use of enhanced half-life coagulation factor concentrates in routine clinical practice: guidance from UKHCDO. *Haemophilia* 2016; 22 (4): 487–98.
8. Shima M., Hanabusa H., Taki M., Matsushita T., Sato T., Fukutake K., et al. Factor VIII-Mimetic Function of Humanized Bispecific Antibody in Hemophilia A. *N Engl J Med* 2016; 374 (21): 2044–53.
9. Adamkewicz J.I., Chen D.C., Paz-Priel I. Effects and Interferences of Emicizumab, a Humanised Bispecific Antibody Mimicking Activated Factor VIII Cofactor Function, on Coagulation Assays. *Thromb Haemost* 2019; 119 (7): 1084–93.
10. Barg A.A., Budnik I., Avishai E., Brutman-Barazani T., Bashari D., Misgav M., et al. Emicizumab prophylaxis: Prospective longitudinal real-world follow-up and monitoring. *Haemophilia* 2021; 27 (3): 383–91.
11. Machin N., Ragni M.V. An investigational RNAi therapeutic targeting antithrombin for the treatment of hemophilia A and B. *J Blood Med* 2018; 9: 135–40.
12. Toulon P., Eloit Y., Smahi M., Sigaud C., Jambou D., Fischer F., et al. *In vitro* sensitivity of different activated partial thromboplastin time reagents to mild clotting factor deficiencies. *Int J Lab Hematol* 2016; 38 (4): 389–96.
13. Moser K.A., Adcock Funk D.M. Chromogenic factor VIII activity assay. *Am J Hematol* 2014; 89 (7): 781–4.
14. Cid A.R., Calabuig M., Cortina V., Casaña P., Haya S., Moret A., et al. One-stage and chromogenic FVIII:C assay discrepancy in mild haemo-

- philia A and the relationship with the mutation and bleeding phenotype. *Haemophilia* 2008; 14 (5): 1049–54.
15. Bowyer A.E., Van Veen J.J., Goodeve A.C., Kitchen S., Makris M. Specific and global coagulation assays in the diagnosis of discrepant mild hemophilia A. *Haematologica* 2013; 98 (12): 1980–7.
 16. Trossaert M., Boisseau P., Quemener A., Sigaud M., Fouassier M., Ternisien C., et al. Prevalence, biological phenotype and genotype in moderate/mild hemophilia A with discrepancy between one-stage and chromogenic factor VIII activity. *J Thromb Haemost* 2011; 9 (3): 524–30.
 17. Potgieter J.J., Damgaard M., Hillarp A. One-stage vs. chromogenic assays in haemophilia A. *Eur J Haematol* 2015; 94 Suppl 77: 38–44.
 18. Emicizumab and the Clinical Coagulation Laboratory. American Society of Chemistry and Laboratory Science; 2020.
 19. Долгов В.В., Свиринов П.В., Вавилова Т.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. Учебно-методическое пособие. М; 2019. [Dolgov V.V., Svirin P.V., Vavilova T.V. Laboratory diagnosis of hemostasis disorders. Educational guide. Moscow; 2019. (In Russ.)].
 20. CLSI. One-stage prothrombin time (PT) test and activated partial thromboplastin time (APTT) test: approved guideline (H47-A2). Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008
 21. Bolton-Maggs P.H.B., Favaloro E.J., Hillarp A., Jennings I., Kohler H.P. Difficulties and pitfalls in the laboratory diagnosis of bleeding disorders. *Haemophilia* 2012; 18 Suppl 4: 66–72.
 22. Castellone D.D., Adcock D.M. Factor VIII Activity and Inhibitor Assays in the Diagnosis and Treatment of Hemophilia A. *Semin Thromb Hemost* 2017; 43 (3): 320–30.
 23. Kitchen S. Assay of factor VIII and other clotting factors. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis*. 2nd ed. 2013.
 24. Tripodi A., Chantarangkul V., Novembrino C., Peyvandi F. Advances in the Treatment of Hemophilia: Implications for Laboratory Testing. *Clin Chem* 2019; 65 (2): 254–62.
 25. Kitchen S., Blakemore J., Friedman K.D., Hart D.P., Ko R.H., Perry D., et al. A computer-based model to assess costs associated with the use of factor VIII and factor IX one-stage and chromogenic activity assays. *J Thromb Haemost* 2016; 14 (4): 757–64.
 26. Mackie I., Cooper P., Lawrie A., Kitchen S., Gray E., Laffan M., et al. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol* 2013; 35 (1): 1–13.
 27. Nordic Hemophilia Guidelines. Nordic Hemophilia Council Guideline Working Group (Version 1). 2015.
 28. Kitchen S., McCraw A., Echenagucia M. Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders - A Laboratory Manual. World Federation of Hemophilia (WFH). 2nd ed. Montréal, Québec, Canada; 2010.
 29. Зозуля Н.И., Аль-Ради Л.С., Андреева Т.А., Галстян Г.М., Жарков П.А., Мамаев А.Н. и др. Российские клинические рекомендации по лечению гемофилии. М.; 2023. [Zozulya N.I., Al-Radi L.S., Andreeva T.A., Galstyan G.M., Zharkov P.A., Mamaev A.N., et al. Russian clinical guidelines for the treatment of hemophilia. Moscow; 2023. (In Russ.)].
 30. European Pharmacopoeia. 8th ed. (8.8). 2019.
 31. Peyvandi F., Oldenburg J., Friedman K.D. A critical appraisal of one-stage and chromogenic assays of factor VIII activity. *J Thromb Haemost* 2016; 14 (2): 248–61.
 32. Sarafanov A.G. Plasma Clearance of Coagulation Factor VIII and Extension of Its Half-Life for the Therapy of Hemophilia A: A Critical Review of the Current State of Research and Practice. *Int J Mol Sci* 2023; 24 (10): 8584.
 33. Bowyer A.E., Van Veen J.J., Goodeve A.C., Kitchen S., Makris M. Specific and global coagulation assays in the diagnosis of discrepant mild hemophilia A. *Haematologica* 2013; 98 (12): 1980–7.
 34. Duncan E., Rodgers S., McRae S. Diagnostic Testing for Mild Hemophilia A in Patients with Discrepant One-Stage, Two-Stage, and Chromogenic Factor VIII:C Assays. *Semin Thromb Hemost* 2013; 39 (3): 272–82.
 35. Mumford A.D., Laffan M., O'Donnell J., McVey J.H., Johnson D.J.D., Manning R.A., et al. A Tyr346→Cys substitution in the interdomain acidic region a1 of factor VIII in an individual with factor VIII:C assay discrepancy. *Br J Haematol* 2002; 118 (2): 589–94.
 36. Hemker H.C., Giesen P., Al Dieri R., Regnault V., De Smedt E., Wagenvoort R., et al. Calibrated Automated Thrombin Generation Measurement in Clotting Plasma. *Pathophysiol Haemos Thromb* 2003; 33 (1): 4–15.
 37. Young G., Sørensen B., Dargaud Y., Negrier C., Brummel-Ziedins K., Key N.S. Thrombin generation and whole blood viscoelastic assays in the management of hemophilia: current state of art and future perspectives. *Blood* 2013; 121 (11): 1944–50.
 38. Hemker H.C., Giesen P.L., Ramjee M., Wagenvoort R., Béguin S. The thrombogram: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma. *Thromb Haemost* 2000; 83 (4): 589–91.
 39. Takeyama M., Nogami K., Shima M. A new parameter in the thrombin generation assay, mean velocity to peak thrombin, reflects factor VIII activity in patients with haemophilia A. *Haemophilia* 2016; 22 (5): e474–7.
 40. Dargaud Y., Béguin S., Lienhart A., Al Dieri R., Trzeciak C., Bordet J., et al. Evaluation of thrombin generating capacity in plasma from patients with haemophilia A and B. *Thromb Haemost* 2005; 93 (3): 475–80.

41. van Veen J.J., Gatt A., Bowyer A.E., Cooper P.C., Kitchen S., Makris M. Calibrated automated thrombin generation and modified thromboelastometry in haemophilia A. *Thromb Res* 2009; 123 (6): 895–901.
42. van Veen J.J., Gatt A., Bowyer A.E., Cooper P.C., Kitchen S., Makris M. The effect of tissue factor concentration on calibrated automated thrombography in the presence of inhibitor bypass agents. *Int J Lab Hematol* 2009; 31 (2): 189–98.
43. Bassus S., Wegert W., Krause M., Escuriola-Ettinghausen C., Siegemund A., Petros S., et al. Platelet-dependent coagulation assays for factor VIII efficacy measurement after substitution therapy in patients with haemophilia A. *Platelets* 2006; 17 (6): 378–84.
44. Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klin Wochenschr* 1948; 26 (37–38): 577–83.
45. Nogami K. The utility of thromboelastography in inherited and acquired bleeding disorders. *Br J Haematol* 2016; 174 (4): 503–14.
46. Chitlur M., Simpson M.L. Role of global assays in thrombosis and thrombophilia. *Pediatric Thrombotic Disorders*. 1st ed. Goldenberg N.A., Manco-Johnson M.J. (eds.). Cambridge University Press; 2014. Pp. 142–157.
47. Whiting D., DiNardo J.A. TEG and ROTEM: Technology and clinical applications. *Am J Hematol* 2014; 89 (2): 228–32.
48. Chitlur M., Young G. Global assays in hemophilia. *Seminars in Hematology* 2016, 53 (1): 40–5.
49. Balkaransingh P., Young G. Novel therapies and current clinical progress in hemophilia A. *Ther Adv Hematol* 2018; 9 (2): 49–61.
50. Wynn T., Gumuscu B. Potential role of a new PEGylated recombinant factor VIII for hemophilia A. *JBM* 2016; 7: 121–8.
51. Инструкция по медицинскому применению препарата Элокта (эфмороктоког альфа). [Электронный ресурс] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=30f1aa47-1c39-4055-b56f-9672e4925712 (дата обращения 16.02.2024). [Elocta (efmorococog alfa) prescribing information. [Electronic resource] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=30f1aa47-1c39-4055-b56f-9672e4925712 (access date 16.02.2024). (In Russ.)].
52. Инструкция по медицинскому применению препарата Аденовейт (руриоктоког альфа пэгол). [Электронный ресурс] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=ca346bd3-3952-4725-9395-d96d89d52908 (дата обращения 16.02.2024). [Adynovate (rurioctocog alfa pegol) prescribing information. [Electronic resource] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=ca346bd3-3952-4725-9395-d96d89d52908 (access date 16.02.2024). (In Russ.)].
53. Инструкция по медицинскому применению препарата Нувик (симоктоког альфа). [Электронный ресурс] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7c6d9670-4c4a-449b-973d-fd3dd974a329 (дата обращения 16.02.2024). [Nuviq (simococog alfa) prescribing information. [Electronic resource] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7c6d9670-4c4a-449b-973d-fd3dd974a329 (access date 16.02.2024). (In Russ.)].
54. Инструкция по медицинскому применению препарата Афстила (лоноктоког альфа). [Электронный ресурс] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7c6d9670-4c4a-449b-973d-fd3dd974a329 (дата обращения 16.02.2024). [Afstyla (lonococog alfa) prescribing information. [Electronic resource] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7c6d9670-4c4a-449b-973d-fd3dd974a329 (access date 16.02.2024). (In Russ.)].
55. Lancellotti S., Sacco M., Tardugno M., Mancuso M.E., De Cristofaro R. Measurement of extended half-life recombinant FVIII molecules: *In vitro* and *ex vivo* evidence of relevant assay discrepancies. *Res Pract Thromb Haemost* 2023; 7 (2): 100070.
56. Ketteler C., Hoffmann I., Davidson S., Tiede A., Richter N. Monitoring of different factor VIII replacement products using a factor VIII one-stage clotting assay on cobas t 511/711 analysers. *Haemophilia* 2021; 27 (6): e704–12.
57. Gray E., Kitchen S., Bowyer A., Chowdary P., Jenkins P.V., Murphy P., et al. Laboratory measurement of factor replacement therapies in the treatment of congenital haemophilia: A United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation guideline. *Haemophilia* 2020; 26 (1): 6–16.
58. Beltrán-Miranda C.P., Khan A., Jaloma-Cruz A.R., Laffan M.A. Thrombin generation and phenotypic correlation in haemophilia A. *Haemophilia* 2005; 11 (4): 326–34.
59. Lewis S.J., Stephens E., Florou G., Macartney N.J., Hathaway L.S., Knipping J., et al. Measurement of global haemostasis in severe haemophilia A following factor VIII infusion. *Br J Haematol* 2007; 138 (6): 775–82.
60. Chitlur M., Warriar I., Rajpurkar M., Hollon W., Llanto L., Wiseman C., et al. Thromboelastography in children with coagulation factor deficiencies. *Br J Haematol* 2008; 142 (2): 250–6.
61. Жаркова П.А. Есть ли место заместительной терапии гемофилии А у детей в настоящем и будущем? *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2022; 9 (3): 56–64. DOI: 10.21682/2311-1267-2022-9-3-56-64 [Zharkov P.A. Is there any place for replacement therapy of hemophilia A in children in present and future? *Russian Journal*

- of Pediatric Hematology and Oncology 2022; 9 (3): 56–64. [In Russ.]].
62. Андреева Т.А., Жарков П.А., Зозуля Н.И., Зоренко В.Ю., Константинова В.Н., Лебедев В.В. и др. Методические рекомендации по ведению больных гемофилией А, получающих эмицизумаб. Гематология и трансфузиология 2022; 67 (2): 267–80. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-2-267-280 [Andreeva T.A., Zharkov P.A., Zozulya N.I., Zorenko V.Yu., Konstantinov, V.N., Lebedev V.V., et al. Management of patients with hemophilia A on emicizumab prophylactic treatment: Recommendation from Russian Experts. Russian journal of hematology and transfusiology 2022; 67 (2): 267–80. (In Russ.)].
 63. Bowyer A.E., Lowe A.E., Tiefenbacher S. Laboratory issues in gene therapy and emicizumab. Haemophilia 2021; 27 (S3): 142–7.
 64. Calhoun W., McInerney M., Calatzis A., Chen D., Adamkewicz J., Morris M. Evaluation of a dedicated calibrator and controls for emicizumab quantification. 4th Scientific Meeting of the Thrombosis and Hemostasis Societies of North America (THSNA). 2018.
 65. Jonsson F., Mercier F., Prins N.H., Schmitt C., Retout S. Exposure-response modeling of emicizumab for the prophylaxis of bleed counts in hemophilia A patients. 27th Meeting of the Population Approach Group in Europe (PAGE). 2018.
 66. McCormick A. Laboratory monitoring of emicizumab in treated patients – how does APTT compare? Res Pract Thromb Haemost 2021; 5 (Suppl 2).
 67. Jenkins P.V., Bowyer A., Burgess C., Gray E., Kitchen S., Murphy P., et al. Laboratory coagulation tests and emicizumab treatment A United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation guideline. Haemophilia 2020; 26 (1): 151–5.
 68. Schmitt C., Adamkewicz J.I., Xu J., Petry C., Catalani O., Young G., et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Emicizumab in Persons with Hemophilia A with Factor VIII Inhibitors: HAVEN 1 Study. Thromb Haemost 2021; 121 (3): 351–60.
 69. Kizilocak H., Marquez-Casas E., Malvar J., Carmona R., Young G. Determining the approximate factor VIII level of patients with severe haemophilia A on emicizumab using *in vivo* global haemostasis assays. Haemophilia 2021; 27 (5): 730–5.
 70. Schmidt M.L., Gamberman S., Smith H.E., Scott J.P., DiMichele D.M. Recombinant activated factor VII (rFVIIa) therapy for intracranial hemorrhage in hemophilia A patients with inhibitors. Am J Hematol 1994; 47 (1): 36–40.
 71. Viuff D., Andersen S., Sørensen B.B., Lethagen S. Optimizing thrombelastography (TEG) assay conditions to monitor rFVIIa (NovoSeven®) therapy in haemophilia a patients. Thromb Res 2010; 126 (2): 144–9.
 72. Young G., Blain R., Nakagawa P., Nugent D.J. Individualization of bypassing agent treatment for haemophilic patients with inhibitors utilizing thromboelastography. Haemophilia 2006; 12 (6): 598–604.
 73. Turecek P.L., Váradi K., Keil B., Negrier C., Berntorp E., Astermark J., et al. Factor VIII Inhibitor-Bypassing Agents Act by Inducing Thrombin Generation and Can Be Monitored by a Thrombin Generation Assay. Pathophysiol Haemos Thromb 2003; 33 (1): 16–22.
 74. Fisher C., Mo A., Warrillow S., Smith C., Jones D. Utility of thromboelastography in managing acquired Factor VIII inhibitor associated massive haemorrhage. Anaesth Intensive Care 2013; 41 (6): 799–803.
 75. Müller J., Pekrul I., Pöttsch B., Berning B., Oldenburg J., Spannagl M. Laboratory Monitoring in Emicizumab-Treated Persons with Hemophilia A. Thromb Haemost 2019; 119 (9): 1384–93.
 76. Kizilocak H., Marquez-Casas E., Phei Wee C., Malvar J., Carmona R., Young G. Comparison of bypassing agents in patients on emicizumab using global hemostasis assays. Haemophilia 2021; 27 (1): 164–72.
 77. Bravo M.I., Raventós A., Pérez A., Costa M., Willis T. Non-additive effect on thrombin generation when a plasma-derived factor VIII/von Willebrand factor (FVIII/VWF) is combined with emicizumab *in vitro*. J Thromb Haemost 2020; 18 (8): 1934–9.
 78. Oldenburg J., Mahlangu J.N., Kim B., Schmitt C., Callaghan M.U., Young G., et al. Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. N Engl J Med 2017; 377 (9): 809–18.
 79. Hartmann R., Feenstra T., Valentino L., Dockal M., Scheiflinger F. *In vitro* studies show synergistic effects of a procoagulant bispecific antibody and bypassing agents. J Thromb Haemost 2018; 16 (8): 1580–91.
 80. Kizilocak H., Yukhtman C.L., Marquez-Casas E., Lee J., Donkin J., Young G. Management of perioperative hemostasis in a severe hemophilia A patient with inhibitors on emicizumab using global hemostasis assays. Ther Adv Hematol 2019; 10: 204062071986002.
 81. Lockhart M., Tardy-Poncet B., Montmartin A., Noyel P., Thouvenin S., Berger C. Surgery with emicizumab prophylaxis for two paediatric patients with severe haemophilia A with inhibitors. Pediatr Blood Cancer 2021; 68 (7): e29041.
 82. Szanto T., Vaide I., Jouppila A., Lemponen M., Lassila R. Thromboelastometry detects enhancement of coagulation in blood by emicizumab via intrinsic pathway. Haemophilia 2021; 27 (4): e571–4.
 83. Ramiz S., Hartmann J., Young G., Escobar M.A., Chitlur M. Clinical utility of viscoelastic testing (TEG and ROTEM analyzers) in the management of old and new therapies for hemophilia. Am J Hematol 2019; 94 (2): 249–56.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-211-218

Условия реализации феномена запрограммированной гибели нейтрофилов с появлением внеклеточных ДНК-ловушек при тромбообразовании

А.Н. Свешникова¹⁻³, Е.А. Адаманская^{1,3}, М.А. Пантелеев¹⁻³¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва³ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва

Формирование внеклеточных ДНК-ловушек нейтрофилов (NET-оз) – механизм запрограммированной клеточной смерти лейкоцитов, имеющий исходно антибактериальную и противогрибковую функции. Способность нейтрофилов активироваться при контакте с активированными тромбоцитами и, в свою очередь, активировать контактный путь свертывания с помощью ДНК-ловушек играет центральную роль в венозных тромбозах и диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови при COVID-19. При этом внутриклеточная сигнализация, управляющая NET-озом, является крайне плохо понятной даже для простейших случаев, когда этот процесс вызывается липополисахаридами бактериальной стенки. В настоящем обзоре мы рассматриваем случай NET-оза при тромбозе, для которого вопросов еще больше. Внимание сосредоточено на условиях наблюдения NET-оза и особенностях его протекания при разных сценариях.

Ключевые слова: нейтрофилы, ДНК-ловушки, внутриклеточная сигнализация, тромбозы

Свешникова А.Н. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 211–8. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-211-218

Conditions for the implementation of the phenomenon of programmed death of neutrophils with the appearance of DNA extracellular traps during thrombus formation

A.N. Sveshnikova¹⁻³, E.A. Adamanskaya^{1,3}, M.A. Panteleev¹⁻³¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow²M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow³Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

The formation of DNA extracellular traps of neutrophils (NET-osis) is a mechanism of programmed cell death of leukocytes, which initially has antibacterial and antifungal functions. The ability of neutrophils to become activated upon contact with activated platelets and, in turn, to activate the contact coagulation pathway via DNA traps plays a central role in venous thrombosis and disseminated intravascular coagulation in COVID-19. At the same time, the intracellular signaling that controls NET-osis is extremely poorly understood even for the simplest cases, when this process is caused by lipopolysaccharides of the bacterial cell wall. In this review, we consider the case of NET-osis in thrombosis, for which there are even more questions. We focused on the conditions for NET-osis observation and features in different scenarios.

Key words: neutrophils, DNA-traps, intracellular signaling, thrombosis

Sveshnikova A.N., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 211–8. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-211-218

Внеклеточные ДНК-ловушки (neutrophil extracellular traps, NETs) – «выбрасываемые» активированными нейтрофилами отрицательно заряженные нити ДНК с ассоциированными с ними активными ферментами нейтрофильных гранулоцитов. Он широко распространен в животном мире – вплоть до таких беспозвоночных, как моллюски и актинии [1]. У людей внеклеточные ловушки могут создавать и другие иммунные клетки – макрофаги, моноциты, эозинофилы, базофилы, тучные клетки [2]. Формирование NETs (NET-оз)

имеет и патологическую сторону: оно сопровождается любой тромботический процесс, а в некоторых случаях является его причиной [3]. Аналогично процессу образования прокоагулянтных тромбоцитов как варианту клеточной смерти, вызванной гиперактивацией [4], NET-оз происходит в результате гиперактивации нейтрофилов, в частности активированными тромбоцитами [5]. При избыточной активации нейтрофилов в месте воспаления сосудистого эндотелия сети приходят в контакт с циркулирующей кровью и вызывают тромбообразование по внутреннему пути свертывания крови [6], что приводит, в частности, к венозным тромбозам [7].

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 15.09.2023

Принята к печати 05.12.2023



EDN: UQHWLZ

Контактная информация:

Свешникова Анастасия Никитична,
д-р физ.-мат. наук, заведующая лабораторией клеточной биологии и трансляционной медицины ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: a.sveshnikova@physics.msu.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 15.09.2023

Accepted 05.12.2023

Correspondence:

Anastasia N. Sveshnikova,
Dr. Sci. in Physics and Mathematics,
Head of the Laboratory of Cellular Biology and Translational Medicine of 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: a.sveshnikova@physics.msu.ru

Настоящий обзор посвящен относительно недавно (2004 г. [8]) открытому механизму реализации защитной функции нейтрофилов, условиям наблюдения этого феномена NET-оза и различным сценариям его реализации, в особенности при тромбозе.

Физиология и жизненный цикл нейтрофилов

Нейтрофилы являются самыми многочисленными ядерными клетками в крови человеческого организма [9]. Их количество может меняться в зависимости от наличия инфекций, воспаления и других патологий [10]. Ежедневно в костном мозге взрослого человека производится около 10^{11} клеток, попадающих в кровь на несколько часов и потом мигрирующих в ткани, где они реализуют свои фагоцитарные функции и утилизируются тканевыми макрофагами. Жизненный цикл созревшего нейтрофила составляет 10–15 ч [11]. Тут стоит отметить, что частота митотических циклов предшественников гранулоцитов увеличивается и продукция гранулоцитов повышается при воспалительных процессах в организме. Помимо этого, образуется и другой пул клеток, состоящий из метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных гранулоцитов [12].

На гранулоцитопоэз влияет множество факторов роста, в первую очередь гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, продукция которых также изменяется при различных заболеваниях, в том числе при онкологии [12]. Нейтрофилы содержат множество гранул, которые делятся на два типа: первичные, характерные для промиело-

цитов и содержащие различные цитокины, активные ферменты-гидролазы и другие ферменты, в том числе миелопероксидазу (МРО) [13], и вторичные, формирующиеся в нейтрофилах на поздних стадиях созревания и содержащие В12-связывающий белок, лактоферрин и другие белки, при этом в зрелом сегментоядерном гранулоците 70–90% составляют вторичные гранулы, а оставшиеся 10–30% – первичные [14].

Отличие сегментоядерного гранулоцита от всех остальных заключается в наличии у ядра 2–5 сегментов, которые связаны хроматиновыми нитями (рисунки 1Б) [12]. К гранулоцитам или полиморфноядерным лейкоцитам относят нейтрофилы, базофилы и эозинофилы (рисунки 1В) [15].

Нейтрофилы или сегментоядерные лейкоциты являются первой линией защиты организма от патогенов, осуществляемой за счет фагоцитоза и дегрануляции [17]. Нейтрофилы являются одними из первых клеток, оказывающихся в области очага инфекции или повреждения, поэтому они передают активационный сигнал другим иммунным клеткам, генерируя набор цитокинов [17]. При фагоцитозе нейтрофилы поглощают патогены, уничтожая их за счет активных форм кислорода, генерируемых в фагосомах [18], но также они способны к секреции противомикробного содержимого своих гранул [18, 19]. Кроме того, нейтрофилы могут играть роль антиген-презентирующих клеток [20]. Избыточная функциональность нейтрофилов приводит к развитию аутовоспалительных заболеваний и хронического воспаления [21, 22], в то время как их недостаточное количество

Рисунок 1

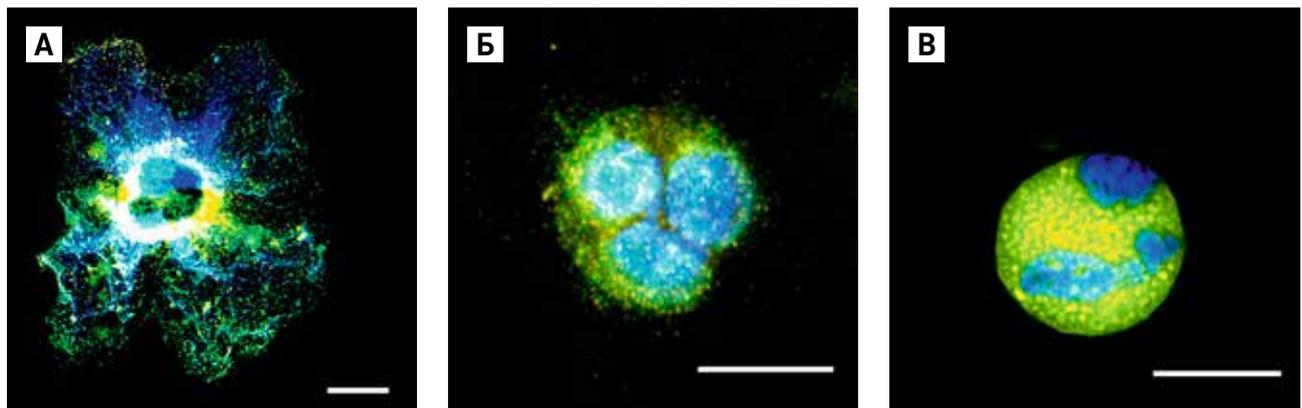
Конфокальная микроскопия PFA-фиксированных гранулоцитов. Адаптировано из [16]

Синий цвет – ДНК (окраска Hoechst33342); зеленый цвет – МРО; желтый цвет – эластаза (Ela; окраска флуоресцентно-мечеными антителами). Масштабный отрезок 10 мкм. А – типичный нейтрофил, испытавший суицидальный NET-оз, можно видеть нити ДНК, выходящие за пределы мембраны клетки; Б – типичный «спящий» нейтрофил, можно видеть сегменты ядра и гранулы; В – типичный эозинофил, можно видеть два сегмента ядра и четко отделяемые богатые Ela азурофильные гранулы

Figure 1

Confocal microscopy of PFA-fixed granulocytes. Adapted from [16]

Blue – DNA (staining with Hoechst33342); green – myeloperoxidase; yellow – elastase (staining with fluorescently labeled antibodies). Scale bar: 10 μ m. А – typical neutrophil that has experienced suicidal NET-osis, strands of DNA extending beyond the cell membrane could be distinguished; Б – typical whole neutrophil, nuclear segments and granules could be distinguished; В – typical eosinophil, two nuclear segments and clearly distinguishable elastase-rich azurophilic granules could be distinguished



или активность – к бактериальным и грибковым инфекциям [23].

В месте воспаления нейтрофилы оказываются благодаря их способности двигаться против градиента хемоаттрактантов [24], выделяемых клетками организма (например, лиганды СХС-рецепторов (СХСЛ)) [25, 26], бактериями (например, липополисахариды (LPS)) [27–29], активированными тромбоцитами (например, интерлейкин-8) [24, 30] или самими нейтрофилами (например, интерлейкины и фактор некроза опухоли- α) [31]. Направляясь градиентом, нейтрофилы мигрируют за счет адгезии к другим клеткам, обеспечиваемой селектинами и интегринами [32]. Стоит отметить, что основные нейтрофильные интегрин α M β 2 (CD11b/CD18, MAC-1) [33] и α X β 2 (CD11c/CD18) [34] способны связывать белки плазмы крови – фибриноген, фибронектин и фактор Виллебранда, через которые может происходить их контакт с тромбоцитами [35]. Кроме того, пары Р-селектин–PSGL также обеспечивают образование тромбоцитарно-нейтрофильных гетероагрегатов [36]. Третий интегрин нейтрофилов, α L β 2 (CD11a/CD18), связывается напрямую с клетками эндотелия через молекулы ICAM-1 [37].

Феномен образования ДНК-ловушек, условия наблюдения, значимость при тромбозах

Тромбоциты и нейтрофилы – клетки крови, выполняющие разные функции. Сегментоядерные лейкоциты являются критическими компонентами врожденной иммунной системы, тем самым играя важную роль в защите организма от патогенов. Основная функция тромбоцитов заключается в их участии в свертываемости крови и предотвращении кровотечения. Однако при различных основных функциях эти клетки должны взаимодействовать при самых различных условиях, таких как воспалительные процессы, травмы и инфекции [38, 39].

В случае воспаления или повреждения сосудистого эндотелия тромбоциты быстро адгезируют к активированным эндотелиоцитам или белкам межклеточного матрикса и образуют тромб [40]. При маленьких повреждениях они могут мигрировать в область стыков между эндотелиоцитами и способствовать перекрытию повреждений и без образования тромба [41, 42]. В свою очередь, нейтрофилы проникают в область раны, фагоцитируют бактерии и производят цитокины, которые привлекают другие белые кровяные клетки для борьбы с инфекцией [43]. Так как эти клетки работают вместе, то тромбоциты при воспалении посылают сигналы нейтрофилам, привлекая их к месту воспаления, а гранулоциты, в свою очередь, могут влиять на тромбоциты, провоцируя их агрегацию и активацию [44]. Суммарно это взаимодействие называют тромбовоспалением [45]

или иммунотромбозом [46], в зависимости от инициатора [47].

Впервые NET-оз наблюдался методами иммунофлуоресцентной и электронной микроскопии при фагоцитозе нейтрофилами бактерий [8], при этом было обнаружено, что бактерии застревают в этих сетях. После активации бактериями или иными патогенами, высвобождение NETs наблюдается через время от 30 мин до нескольких часов [27, 48]. В качестве модельного активатора, вызывающего NET-оз от 20 до 80% нейтрофилов [49, 50], является фторбол-12-мирилат-13-ацетат (PMA) – активатор протеинкиназы С (PKC) [49, 51]. Альтернативным, более физиологическим агентом, *in vitro* вызывающим NET-оз от 30 до 50% нейтрофилов [29, 49, 52], является компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий – LPS, действующий на Toll-подобные рецепторы, в первую очередь на TLR4 [29, 49].

В процессе NET-оза нейтрофилы претерпевают изменения в собственной морфологии. Разрывается ядерная оболочка и высвобождается хроматин. Гранулярные белки выходят из гранул в цитоплазме клетки и затем перемешиваются с нитями ДНК. Таким образом, во внеклеточное пространство попадает структура, состоящая из нитей ДНК, антимикробных пептидов и гистонов [53, 54]. Обязательным условием выбрасывания сетей является активация нейтрофила, т. е. если клетка находилась в покое, то в норме NET-оз начаться не должен [55, 56].

Существует два основных механизма образования NET-ов: витальный и суицидальный. Главное отличие данных механизмов заключается в том, что при витальном NET-озе нейтрофилы сохраняют свои фагоцитарные функции и целостность плазматической мембраны [53], при этом ДНК не выплескивается в виде нитей, а выделяется клеткой в виде компактных везикул (*рисунок 2А*). Классический суицидальный NET-оз сопровождается образованием сетей, на которых расположены активированные ферменты нейтрофилов – Ela и MPO (*рисунок 2Б*) [53, 57].

Помимо этих ситуаций ДНК-ловушки могут способствовать развитию тромбоза. Связано это с тем, что сети активируют тромбоциты, а также каскад свертывания по контактному пути [7, 58]. Такое патогенное действие проявляется в таких заболеваниях, как тромбоз глубоких вен, легочная эмболия, сепсис и др. [7, 44, 59]. Сейчас считается, что для ряда важных заболеваний, включая венозный тромбоз [7, 60] и системное свертывание крови при COVID-19 [47, 61], активация свертывания крови ДНК-ловушками нейтрофилов является ведущим механизмом развития. Эксперименты на приматах показали, что ингибиторы взаимодействия Р-селектин–PSGL-1, блокирующие активацию нейтрофилов тромбоци-

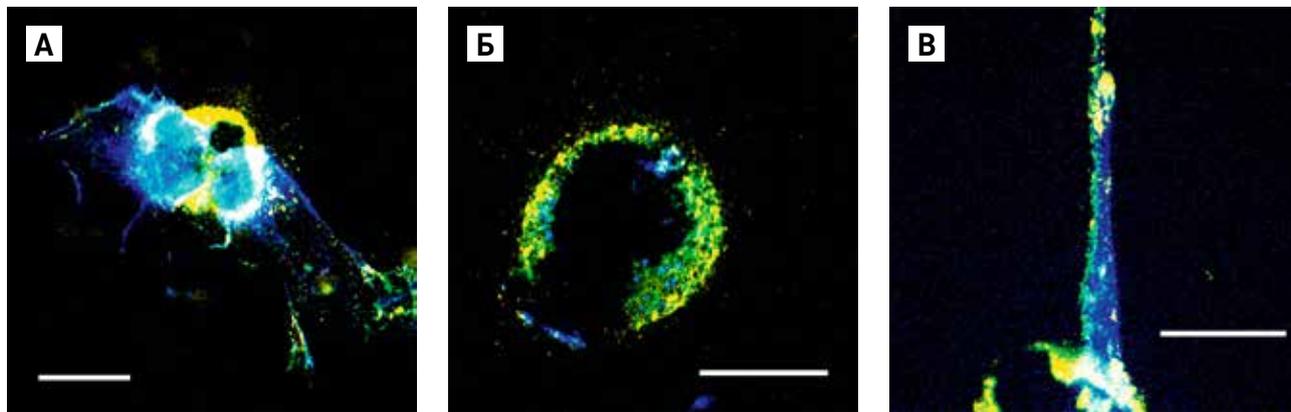
Рисунок 2

Конфокальная микроскопия PFA-фиксированных нейтрофилов. Адаптировано из [16]
 Синий цвет – ДНК (окраска Hoechst33342); зеленый цвет – МРО; желтый цвет – Ela (окраска флуоресцентно-мечеными антителами). Масштабный отрезок 10 мкм. А – типичный нейтрофил, испытавший суицидальный NET-оз, можно видеть нити ДНК, выходящие за пределы мембраны клетки; Б – типичный нейтрофил, испытавший витальный NET-оз, можно видеть отдельные гранулы, содержащие ДНК; В – типичный встречающийся тяж NET-оза при суицидальном NET-озе

Figure 2

Confocal microscopy of PFA-fixed neutrophils. Adapted from [16]

Blue – DNA (staining with Hoechst33342); green – myeloperoxidase; yellow – elastase (staining with fluorescently labeled antibodies). Scale bar: 10 μ m. A – in a typical neutrophil that has experienced suicidal NET disease, strands of DNA can be seen extending beyond the cell membrane; Б – in a typical neutrophil that has experienced vital NET disease, individual granules containing DNA can be seen; В – a typical NET strand found in suicidal NET disease



тами, подавляют венозный тромбоз лучше, чем классическая терапия гепарином [62].

Однако важно подчеркнуть, что NET-оз в таких условиях может протекать по совсем иным механизмам и управляться иными путями сигнализации, нежели канонические модельные схемы. Поэтому ниже это различие будет отмечаться особо.

Разумеется, если NET-оз и тромбоз идут при сепсисе на фоне острого воспаления, то активация нейтрофилов в тромбозе может происходить как по классическим механизмам, так и по тромботическим.

Механизмы суицидального и витального NET-оза

Суицидальный вариант NET-оза – это классический вариант с появлением сетей (рисунки 1А, 2Б). Сами ДНК-ловушки представляют собой паутиноподобные нити, диаметр которых может быть в пределах нескольких микрон (рисунки 2В) [57], а длина – до нескольких десятков микрон [63, 64]. В экспериментах *in vitro* такой вариант наблюдается в первую очередь при активации нейтрофилов PMA, т. е. в результате активности протеинкиназы С [27]. Активация протеинкиназы С может происходить и в физиологических условиях. Например, при активации СХС-рецепторов их лигандами (интерлейкины и СХСЛ) происходит $\beta\gamma$ -активация фосфолипазы С, что приводит к активации классических изоформ РКС [65]. Активная РКС приводит к активации NADPH-оксидазы (NADPH oxidases, NOX) нейтрофилов, что ведет к высвобождению активных форм кислорода (reactive oxygen species, ROS), а также апоптотическим событиям, таким как открытие митохондриальных пор [66] и выход цитохрома с [67, 68].

Процесс суицидального NET-оза протекает в строго определенной последовательности стадий (рисунки 3 [56]). Первая стадия NET-оза характеризуется активацией NOX за счет РКС-зависимого фосфорилирования ее субъединиц [69]. Источниками ROS в нейтрофилах являются не только NOX, но и митохондрии клетки, активирующиеся в результате кальциевой сигнализации [66]. В некоторых исследованиях отмечено, что при гранулематозе при сниженном значении NADPH образование ДНК-ловушек значительно снижено [70].

По мере того как вырабатывается ROS, ДНК начинает раскручиваться и постепенно растягиваться, что связано с процессом цитруллинирования гистонов [71], а также с деполимеризацией цитоскелета [72]. ROS приводят к распаду мембран гранул и фагосом [73–75], в результате в цитозоль выбрасываются ферменты МРО и Ela [75]. Ela разрушает цитоскелет и мигрирует в ядро, где происходит расщепление гистонов, деконденсация хроматина и разрыв ядерной оболочки [47, 53, 76]. Одной из важных составляющих процесса является зависимость от MAPK-каскада и кальция активация пептидил-аргинин деиминазы 4 (PAD4), которая превращает остатки аргинина гистонов в цитруллин, в результате чего исчезает заряд гистонов и снижается их взаимодействие с ДНК [56], что приводит к деконденсации хроматина, являющейся отличительной особенностью NET-оза.

После разрыва ядерной мембраны следует так называемое смешивание содержимого ядра и гранул. В процессе этого среди нитей хроматина находятся белки и ферменты гранул нейтрофилов. Такое сочетание придает сетям различные антимикробные свойства. Последним этапом NET-оза является вытес-

Рисунок 3

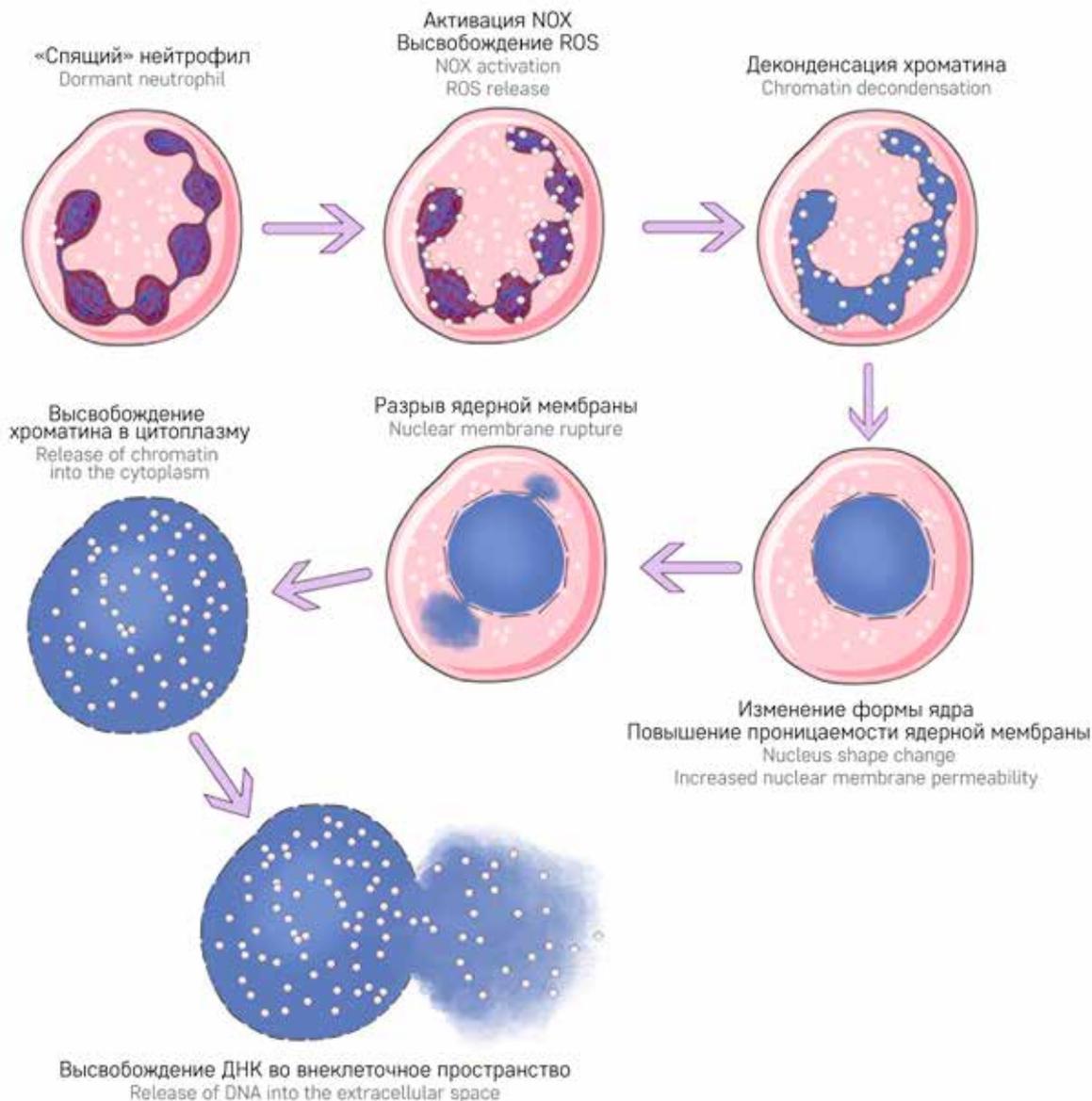
Стадии протекания суицидального NET-оза. Адаптировано из [56]

При контакте с активатором в «спящем» нейтрофиле происходят активация NOX и генерация ROS (белые кружки), что приводит к окислению гистонов (красный цвет), деконденсации хроматина и расплетению ДНК (синий цвет). ROS-опосредованное увеличение проницаемости ядерной мембраны приводит к изменению формы ядра и в дальнейшем к выходу ДНК в цитоплазму. Дальнейшее действие ROS и активных гидролаз нейтрофильных гранул приводит к разрыву плазматической мембраны и высвобождению ДНК во внеклеточное пространство

Figure 3

Stages of suicidal NET-osis. Adapted from [56]

Upon contact with an activator in a dormant neutrophil, NOX is activated and ROS are generated (white circles), which leads to histone oxidation (red), chromatin decondensation and DNA uncoiling (blue). A ROS-mediated increase in the nuclear membrane permeability leads to a change in the shape of the nucleus and, subsequently, the release of DNA into the cytoplasm. Further action of ROS and active hydrolases of neutrophil granules leads to rupture of the plasma membrane and release of DNA into the extracellular space



нение сетей во внеклеточное пространство. Находясь там, они начинают улавливать и уничтожать посторонние для организма патогены. Разрыв как ядерной, так и плазматической мембраны происходит вследствие увеличения объема воды, ассоциированной с ДНК в отсутствие компенсирующих зарядов. При этом разрыв мембран считается управляемым процессом, однако его физико-химические механизмы до конца не изучены [53, 73].

Прижизненный (витальный) NET-оз, или NET-оз II типа, характеризуется тем, что в его процессе

клетка выбрасывает ДНК, но не погибает. В отличие от суицидального типа витальный NET-оз запускается другими стимулами, в первую очередь LPS и цитокинами, а также не зависит от NOX и активных форм кислорода [77]. Активация витального NET-оза связана с ответом организма на различные типы микробных патогенов [78], при этом она не требует длительного времени на окисление мембран и их физическое разрушение, поэтому активация NET-оза вызывается достаточно быстро и не требует часов, как в случае с РМА. Ключевым ферментом

в витальном NET-озе считается деиминаза PAD4, в частности деимилирующая аргинин в гистонах, что приводит к расплетению ДНК [72]. Считается, что при расплетении ДНК ядерная мембрана образует везикулы, которые содержат нити ДНК. Эти везикулы, предположительно, образуются из внешней ядерной оболочки, а затем сливаются с клеточной мембраной. При этом ядерная и клеточные мембраны не разрушаются [78, 79]. Это позволяет нейтрофилам продолжать защищать организм от воздействия инородных патогенов. В частности, PAD4 важен для формирования и участия NETs при тромбозе: у нокаутных по PAD4 мышей не только отсутствует NET-оз при стимуляции основными агонистами, но также практически не получается вызвать тромбоз глубоких вен [80].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время NET-оз рассматривается как ключевой патологический фактор тромбозов различной этиологии. Однако сам по себе феномен NET-оза, по-видимому, является гетерогенным: существует как минимум два основных варианта (суицидальный и витальный), а также множество способов и

условий активации, которые приводят к разным вариантам протекания и разным результатам. Огромное и быстро растущее количество литературных источников по NET-озу содержит много противоречий, связанных с типом и условиями активации (обычно исследователи выбирают ограниченное число вариантов), выбором животных (больше всего данных о роли NETs *in vivo* на мышах, но есть основания считать, что там есть крупные отличия от приматов), способом наблюдения. Подавляющее большинство результатов по NET-озу получено в условиях, отличающихся от NET-оза при тромбозе, и это необходимо учитывать при попытке получить цельную картину.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации №075-15-2022-242.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Sveshnikova A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4720-7319>

Adamanskaya E.A. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-4828-4063>

Panteleev M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8128-7757>

Литература

1. Robb C.T., Dyrzynda E.A., Gray R.D., Rossi A.G., Smith V.J. Invertebrate Extracellular Phagocyte Traps Show That Chromatin Is an Ancient Defence Weapon. *Nat Commun* 2014; 5: 4627. DOI: 10.1038/ncomms5627
2. Daniel C., Leppkes M., Muñoz L.E., Schley G., Schett G., Herrmann M. Extracellular DNA Traps in Inflammation, Injury and Healing. *Nat Rev Nephrol* 2019; 15: 559–75. DOI: 10.1038/s41581-019-0163-2
3. Palacios-Acedo A.L., Mège D., Crescence L., Dignat-George F., Dubois C., Panicot-Dubois L. Platelets, Thrombo-Inflammation, and Cancer: Collaborating With the Enemy. *Front Immunol* 2019; 10: 1805. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01805
4. Sveshnikova A.N., Ataulkhanov F.I., Panteleev M.A. Compartmentalized Calcium Signaling Triggers Subpopulation Formation upon Platelet Activation through PAR1. *Mol BioSyst* 2015; 11: 1052–60. DOI: 10.1039/c4mb00667d
5. Cadrillier A., Kessenbrock K., Gilliss B.M., Nguyen J.X., Marques M.B., Monestier M., et al. Platelets Induce Neutrophil Extracellular Traps in Transfusion-Related Acute Lung Injury. *J Clin Invest* 2012; 122: 2661–71. DOI: 10.1172/JCI61303
6. Golas A., Parhi P., Dimachkie Z.O., Siedlecki C.A., Vogler E.A. Surface-Energy Dependent Contact Activation of Blood Factor XII. *Biomaterials* 2010; 31: 1068–79. DOI:10.1016/j.biomaterials.2009.10.039
7. Fuchs T.A., Brill A., Wagner D.D. Neutrophil Extracellular Trap (NET) Impact on Deep Vein Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32: 1777–83. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.242859
8. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., et al. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science* 2004; 303: 1532–5. DOI: 10.1126/science.1092385
9. Rosales C. Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? *Front Physiol* 2018; 9: 113.
10. Козлов С.О., Кудрявцев И.В., Грудина Н.А., Костевич В.А., Панасенко О.М., Соколов А.В., Васильев В.Б. Активированные нейтрофилы, продуцирующие HOCL, выявляющиеся при проточной цитометрии и конфокальной микроскопии с помощью целестинового синего В. *Acta Biomedica Scientifica* 2016; 1 (3(2)): 86–91. DOI: 10.12737/article_590823a4895537.04307905 [Kozlov S.O., Kudryavtsev I.V., Grudinina N.A., Kostevich V.A., Panasenکو O.M., Sokolov A.V., Vasilyev V.B. Activated producing HOCL neutrophils revealed by flow cytometry and confocal microscopy with celestine blue B. *Acta Biomedica Scientifica* 2016; 1 (3(2)): 86–91. (In Russ.)].
11. Bratton D.L., Henson P.M. Neutrophil Clearance: When the Party Is over, Clean-up Begins. *Trends Immunol* 2011; 32: 350–7. DOI: 10.1016/j.it.2011.04.009
12. Hoffbrand V., Vyas P., Campo E., Haferlach T., Gomez K. *Color Atlas of Clinical Hematology: Molecular and Cellular Basis of Disease*. John Wiley & Sons; 2019. ISBN 978-1-119-05701-7.
13. Borregaard N., Sørensen O.E., Theilgaard-Mönch K. Neutrophil Granules: A Library of Innate Immunity Proteins. *Trends Immunol* 2007; 28: 340–5. DOI:10.1016/j.it.2007.06.002
14. Погорелов В., Козинец Г., Дягилева О., Луговская С., Проценко Д., Сарычева Т. *Гематологический атлас. Настольное руководство врача-лаборанта*. Litres; 2022. ISBN 978-5-04-256439-0. [Pogorelov V., Kozinets G., Diaghileva O., Lugovskaya S., Protsenko D., Sarycheva T. *Hematological atlas. Laboratory physician's desk*

- manual. Litres; 2022. ISBN 978-5-04-256439-0. (In Russ.)).
15. Murphy K.M., Weaver C. *Janeway's Immunobiology*; Garland Science/Taylor & Francis Group, LLC; 2017. ISBN 978-0-8153-4505-3.
 16. Адаманская Е.А., Юшкова Е.В., Федорова Д.В., Соколов А.В., Подоплелова Н.А., Свешникова А.Н. Методика наблюдения ДНК-ловушек нейтрофилов в образцах крови педиатрических пациентов. Сборник тезисов XXIV съезда физиологического общества им. И.П. Павлова. СПб.: ООО «Издательство ВВМ»; 2023. [Adamanskaya E.A., Yushkova E.V., Fedorova D.V., Sokolov A.V., Podoplelova N.A., Sveshnikova A.N. Methodology for Observing Neutrophil DNA Traps in Blood Samples of Pediatric Patients. Abstracts of the XXIV Congress of the Physiological Society named after I.P. Pavlov. St. Petersburg: VVM Publishing House LLC; 2023.
 17. Nathan C. Neutrophils and Immunity: Challenges and Opportunities. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 173–82. DOI: 10.1038/nri1785
 18. Segal A.W. How Neutrophils Kill Microbes. *Ann Rev Immunol* 2005; 23: 197–223. DOI: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115653
 19. Mayadas T.N., Cullere X., Lowell C.A. The Multifaceted Functions of Neutrophils. *Annu Rev Pathol* 2014; 9: 181–218. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023
 20. Witko-Sarsat V., Rieu P., Descamps-Latscha B., Lesavre P., Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: Molecules, Functions and Pathophysiological Aspects. *Lab Invest* 2000; 80: 617–53. DOI: 10.1038/labinvest.3780067
 21. Smith C.K., Kaplan M.J. The Role of Neutrophils in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2015; 27: 448. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000197
 22. Yu Y., Su K. Neutrophil Extracellular Traps and Systemic Lupus Erythematosus. *J Clin Cell Immunol* 2013; 4: 139. DOI: 10.4172/2155-9899.1000139
 23. Summers C., Rankin S.M., Condliffe A.M., Singh N., Peters A.M., Chilvers E.R. Neutrophil Kinetics in Health and Disease. *Trends Immunol* 2010; 31: 318–24. DOI: 10.1016/j.it.2010.05.006
 24. Petri B., Sanz M.-J. Neutrophil Chemotaxis. *Cell Tissue Res* 2018; 371: 425–36. DOI: 10.1007/s00441-017-2776-8
 25. Murphy P.M. Neutrophil Receptors for Interleukin-8 and Related CXC Chemokines. *Semin Hematol* 1997; 34: 311–8.
 26. Schoenwaelder S.M., Ruggeri Z.M., Westein E., Kaplan Z.S., Jackson S.P., Ashworth K.J., et al. The CXCR1/2 Ligand NAP-2 Promotes Directed Intravascular Leukocyte Migration through Platelet Thrombi. *Blood* 2013; 121: 4555–66. DOI: 10.1182/blood-2012-09-459636
 27. Damascena H.L., Silveira W.A.A., Castro M.S., Fontes W. Neutrophil Activated by the Famous and Potent PMA (Phorbol Myristate Acetate). *Cells* 2022; 11: 2889. DOI: 10.3390/cells11182889
 28. Karpurapu M., Lee, Y.G., Qian Z., Wen J., Ballinger M.N., Rusu L., et al. Inhibition of Nuclear Factor of Activated T Cells (NFAT) C3 Activation Attenuates Acute Lung Injury and Pulmonary Edema in Murine Models of Sepsis. *Oncotarget* 2018; 9: 10606–20. DOI: 10.18632/oncotarget.24320
 29. Zanoni I., Ostuni R., Capuano G., Collini M., Caccia M., Ronchi A.E., et al. CD14 Regulates the Dendritic Cell Life Cycle after LPS Exposure through NFAT Activation. *Nature* 2009; 460 (7252): 264–8. DOI: 10.1038/nature08118
 30. Businaro R., Scaccia E., Bordin A., Pagano F., Corsi M., Siciliano C., et al. Platelet Lysate-Derived Neuropeptide y Influences Migration and Angiogenesis of Human Adipose Tissue-Derived Stromal Cells. *Sci Rep* 2018; 8: 14365. DOI: 10.1038/s41598-018-32623-8
 31. Cassatella M.A. The Neutrophil: An Emerging Regulator of Inflammatory and Immune Response. Karger Medical and Scientific Publishers; 2003. ISBN 978-3-8055-7552-2.
 32. Lindbom L., Werr J. Integrin-Dependent Neutrophil Migration in Extravascular Tissue. *Semin Immunol* 2002; 14: 115–21. DOI: 10.1006/smim.2001.0348
 33. Pluskota E., Soloviev D.A., Szpak D., Weber C., Plow E.F. Neutrophil Apoptosis: Selective Regulation by Different Ligands of Integrin α M β 2. *J Immunol* 2008; 181: 3609–19.
 34. Ugarova T.P., Yakubenko V.P. Recognition of Fibrinogen by Leukocyte Integrins. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 936: 368–85. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb03523.x
 35. Zarbock A., Ley K. Platelet-Neutrophil-Interactions: Linking Hemostasis and Inflammation. *Blood Rev* 2007; 21 (2): 99–111. DOI: 10.1016/j.blre.2006.06.001
 36. Yago T., Shao B., Miner J.J., Yao L., Klopocki A.G., Maeda K., et al. E-Selectin Engages PSGL-1 and CD44 through a Common Signaling Pathway to Induce Integrin α L β 2-Mediated Slow Leukocyte Rolling. *Blood* 2010; 116: 485–94. DOI: 10.1182/blood-2009-12-259556
 37. Zhou F., Zhang F., Zarnitsyna V.I., Doudy L., Yuan Z., Li K., et al. The Kinetics of E-Selectin- and P-Selectin-Induced Intermediate Activation of Integrin α L β 2 on Neutrophils. *J Cell Sci* 2021; 134: jcs258046. DOI: 10.1242/jcs.258046
 38. Jenne C.N., Kubes P. Platelets in Inflammation and Infection. *Platelets* 2015; 26: 286–92. DOI: 10.3109/09537104.2015.1010441
 39. Koupouva M., Corkrey H.A., Vitseva O., Manni G., Pang C.J., Clancy L., et al. The Role of Platelets in Mediating a Response to Human Influenza Infection. *Nat Commun* 2019; 10: 1780. DOI: 10.1038/s41467-019-09607-x
 40. Sveshnikova A., Stepanyan M., Panteleev M. Platelet Functional Responses and Signalling: The Molecular Relationship. Part 1: Responses. *Systems Biol Physiol Rep* 2021; 1: 20. DOI: 10.52455/sbpr.01.202101014
 41. Nicolai L., Schiefelbein K., Lipsky S., Leunig A., Hoffknecht M., Pekayvaz K., et al. Vascular Surveillance by Haptotactic Blood Platelets in Inflammation and Infection. *Nat Commun* 2020; 11: 5778. DOI: 10.1038/s41467-020-19515-0
 42. Gros A., Syvannarath V., Lamrani L., Ollivier V., Loyau S., Goerge T., et al. Single Platelets Seal Neutrophil-Induced Vascular Breaches via GPVI during Immune-Complex-Mediated Inflammation in Mice. *Blood* 2015; 126: 1017–26. DOI: 10.1182/blood-2014-12-617159
 43. Knorr D.A., Bachanova V., Verneris M.R., Miller J.S. Clinical Utility of Natural Killer Cells in Cancer Therapy and Transplantation. *Semin Immunol* 2014; 26: 161–72. DOI: 10.1016/j.smim.2014.02.002
 44. Shannon O. The Role of Platelets in Sepsis. *Res Pract Thromb Haemost* 2021; 5: 27–37. DOI: 10.1002/rth2.12465
 45. Schattner M., Jenne C.N., Negrotto S., Ho-Tin-Noe B. Editorial: Platelets and Immune Responses During Thromboinflammation. *Front Immunol* 2020; 11: 1079. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01079
 46. Bonaventura A., Vecchié A., Dagna L., Martinod K., Dixon D.L., van Tassel B.W., et al. Endothelial Dysfunction and Immunothrombosis as Key Pathogenic Mechanisms in COVID-19. *Nat Rev Immunol* 2021; 21: 319–29. DOI: 10.1038/s41577-021-00536-9
 47. Zhu Y., Chen X., Liu X. NETosis and Neutrophil Extracellular Traps in COVID-19: Immunothrombosis and Beyond. *Front Immunol* 2022; 13: 838011. DOI: 10.3389/fimmu.2022.838011
 48. de Bont C.M., Koopman W.J.H., Boelens W.C., Puijn G.J.M. Stimulus-Dependent Chromatin Dynamics, Citrullination, Calcium Signalling and ROS Production during NET Formation.

- Biochim Biophys Acta Mol Cell Res 2018; 1865: 1621–9. DOI:10.1016/j.bbamcr.2018.08.014
49. Khan M.A., Farahvash A., Douda D.N., Licht, J.-C., Grasemann H., Sweezy N., Palaniyar N. JNK Activation Turns on LPS- and Gram-Negative Bacteria-Induced NADPH Oxidase-Dependent Suicidal NETosis. *Sci Rep* 2017; 7: 3409. DOI: 10.1038/s41598-017-03257-z
 50. Agarwal S., Loder S., Cholok D., Li J., Bian G., Yalavarthi S., et al. Disruption of Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Links Mechanical Strain to Post-Traumatic Inflammation. *Front Immunol* 2019; 10: 2148. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02148
 51. Pai D., Gruber M., Pfaehler S.-M., Bredthauer A., Lehle K., Trabold B. Polymorphonuclear Cell Chemotaxis and Suicidal NETosis: Simultaneous Observation Using fMLP, PMA, H7, and Live Cell Imaging. *J Immunol Res* 2020; 2020: e1415947. DOI: 10.1155/2020/1415947
 52. Arroyo R., Khan M.A., Echaide M., Pérez-Gil J., Palaniyar N. SP-D Attenuates LPS-Induced Formation of Human Neutrophil Extracellular Traps (NETs), Protecting Pulmonary Surfactant Inactivation by NETs. *Commun Biol* 2019; 2: 1–13. DOI: 10.1038/s42003-019-0662-5
 53. Papayannopoulos V. Neutrophil Extracellular Traps in Immunity and Disease. *Nat Rev Immunol* 2018; 18: 134–47. DOI: 10.1038/nri.2017.105
 54. 孝泰野村 NETosis. *日本小児アレルギー学会誌* 2019; 33: 348–9. DOI: 10.3388/jspaci.33.348
 55. Remijsen Q., Kuijpers T.W., Wirawan E., Lippens S., Vandenabeele P., Vanden Berghe T. Dying for a Cause: NETosis, Mechanisms behind an Antimicrobial Cell Death Modality. *Cell Death Differ* 2011; 18: 581–8. DOI: 10.1038/cdd.2011.1
 56. Thiam H.R., Wong S.L., Wagner D.D., Waterman C.M. Cellular Mechanisms of NETosis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2020; 36: 191–218. doi: 10.1146/annurev-cellbio-020520-111016
 57. Stoimenou M., Tzoros G., Skendros P., Chrysanthopoulou A. Methods for the Assessment of NET Formation: From Neutrophil Biology to Translational Research. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 15823. DOI: 10.3390/ijms232415823
 58. Andrews R.K., Arthur J.F., Gardner E.E. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) and the Role of Platelets in Infection. *Thromb Haemost* 2014; 112: 659–65. DOI: 10.1160/TH14-05-0455
 59. Balázs A., Mall M.A. Mucus Obstruction and Inflammation in Early Cystic Fibrosis Lung Disease: Emerging Role of the IL-1 Signaling Pathway. *Pediatr Pulmonol* 2019; 54: S5–12. DOI: 10.1002/ppul.24462
 60. Martinod K., Witsch T., Farley K., Gallant M., Remold-O'Donnell E., Wagner D.D. Neutrophil Elastase-Deficient Mice Form Neutrophil Extracellular Traps in an Experimental Model of Deep Vein Thrombosis. *J Thromb Haemost* 2016; 14 (3): 551–8. DOI: 10.1111/jth.13239
 61. Martyanov A.A., Boldova A.E., Stepanyan M.G., An O.I., Gur'ev A.S., Kassina D.V., et al. Longitudinal Multiparametric Characterization of Platelet Dysfunction in COVID-19: Effects of Disease Severity, Anticoagulation Therapy and Inflammatory Status. *Thromb Res* 2022; 211: 27–37. DOI: 10.1016/j.thromres.2022.01.013
 62. Ramacciotti E., Myers D.D., Wroblewski S.K., Deatrick K.B., Lundy F.J., Rectenwald J.E., et al. P-Selectin/PSGL-1 Inhibitors versus Enoxaparin in the Resolution of Venous Thrombosis: A Meta-Analysis. *Thromb Res* 2010; 125: e138–42. DOI: 10.1016/j.thromres.2009.10.022
 63. Lee K.H., Kronbichler A., Park D.D.-Y., Park Y., Moon H., Kim H., et al. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in Autoimmune Diseases: A Comprehensive Review. *Autoimmun Rev* 2017; 16: 1160–73. DOI: 10.1016/j.autrev.2017.09.012
 64. Mesa M.A., Vasquez G. NETosis. *Autoimmune Diseases* 2013; 2013: e651497. DOI: 10.1155/2013/651497
 65. Philip F., Kadamur G., Silos R.G., Woodson J., Ross E.M. Synergistic Activation of Phospholipase C-β3 by Gαq and Gβγ Describes a Simple Two-State Coincidence Detector. *Curr Biol* 2010; 20: 1327–35. DOI: 10.1016/J.CUB.2010.06.013
 66. Vorobjeva N., Galkin I., Pletjushkina O., Golyshev S., Zinovkin R., Prikhodko A. et al. Mitochondrial Permeability Transition Pore Is Involved in Oxidative Burst and NETosis of Human Neutrophils. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2020; 1866: 165664. DOI: 10.1016/j.bbadis.2020.165664
 67. Yang C., Wang Z., Li L., Zhang Z., Jin X., Wu P., et al. Aged Neutrophils Form Mitochondria-Dependent Vital NETs to Promote Breast Cancer Lung Metastasis. *J Immunother Cancer* 2021; 9: e002875. DOI: 10.1136/jitc-2021-002875
 68. Luo H.R., Loison F. Constitutive Neutrophil Apoptosis: Mechanisms and Regulation. *Am J Hematol* 2008; 83: 288–95. DOI: 10.1002/ajh.21078
 69. Fuchs T.A., Abed U., Goosmann C., Hurwitz R., Schulze I., Wahn V., et al. Novel Cell Death Program Leads to Neutrophil Extracellular Traps. *J Cell Biol* 2007; 176: 231–41. DOI: 10.1083/jcb.200606027
 70. Bianchi M., Hakkim A., Brinkmann V., Siler U., Seger R.A., Zychlinsky A., et al. Restoration of NET Formation by Gene Therapy in CGD Controls Aspergillosis. *Blood* 2009; 114: 2619–22. DOI: 10.1182/blood-2009-05-221606
 71. Saffarzadeh M., Juenemann C., Queisser M.A., Lochnit G., Barreto G., Galuska S.P., et al. Neutrophil Extracellular Traps Directly Induce Epithelial and Endothelial Cell Death: A Predominant Role of Histones. *PLoS One* 2012; 7: e32366. DOI: 10.1371/journal.pone.0032366
 72. Thiam H.R., Wong S.L., Qiu R., Kittisopikul M., Vahabikashi A., Goldman A.E., et al. NETosis Proceeds by Cytoskeleton and Endomembrane Disassembly and PAD4-Mediated Chromatin Decondensation and Nuclear Envelope Rupture. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117: 7326–37. DOI: 10.1073/pnas.1909546117
 73. Metzler K.D., Goosmann C., Lubojemska A., Zychlinsky A., Papayannopoulos V. A Myeloperoxidase-Containing Complex Regulates Neutrophil Elastase Release and Actin Dynamics during NETosis. *Cell Rep* 2014; 8: 883–96. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.06.044
 74. Chen T., Li Y., Sun R., Hu H., Liu Y., Herrmann M., et al. Receptor-Mediated NETosis on Neutrophils. *Front Immunol* 2021; 12: 775267.
 75. Vorobjeva N.V., Chernyak B.V. NETosis: Molecular Mechanisms, Role in Physiology and Pathology. *Biochemistry (Mosc)* 2020; 85: 1178–90. DOI: 10.1134/S0006297920100065
 76. Klopff J., Brostjan C., Eilenberg W., Neumayer C. Neutrophil Extracellular Traps and Their Implications in Cardiovascular and Inflammatory Disease. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 559. DOI: 10.3390/ijms22020559
 77. von Köckritz-Blickwede M., Winstel V. Molecular Prerequisites for Neutrophil Extracellular Trap Formation and Evasion Mechanisms of *Staphylococcus Aureus*. *Front Immunol* 2022; 13: 836278.
 78. Yipp B.G., Kubes P. NETosis: How Vital Is It? *Blood* 2013; 122: 2784–94. DOI: 10.1182/blood-2013-04-457671
 79. Pilszczek F.H., Salina D., Poon K.K.H., Fahey C., Yipp B.G., Sibley C.D., et al. A Novel Mechanism of Rapid Nuclear Neutrophil Extracellular Trap Formation in Response to *Staphylococcus Aureus*. *J Immunol* 2010; 185: 7413–25. DOI: 10.4049/jimmunol.1000675
 80. Martinod K., Demers M., Fuchs T.A., Wong S.L., Brill A., Gallant M., et al. Neutrophil Histone Modification by Peptidylarginine Deiminase 4 Is Critical for Deep Vein Thrombosis in Mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 8674–9. DOI: 10.1073/pnas.1301059110

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-219-230

Имунофенотипирование в диагностике острых лейкозов неоднозначной линейности. Результаты централизованной диагностики и практические рекомендации

И.А. Дёмина¹, Е.В. Михайлова¹, А.А. Семченкова¹, Т.Ю. Вержбицкая^{2,3}, Ж.В. Пермикин^{2,4}, С.А. Кашпор¹, Е.А. Зеркаленкова¹, Г.А. Цаур²⁻⁴, Ю.В. Ольшанская¹, Л.Г. Фечина^{2,3}, А.И. Карачунский^{1,5}, Г.А. Новичкова¹, А.М. Попов¹

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

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

³ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

⁴ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург

⁵ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Острые лейкозы неоднозначной линейности (ОЛНЛ) – редко встречающиеся виды острых лейкозов (ОЛ), характеризующиеся специфическими признаками сразу нескольких линий гемопозеза или отсутствием четких признаков линейной дифференцировки. Имунофенотипирование играет ключевую роль в диагностике и классификации ОЛНЛ. Несмотря на предлагаемые различными исследовательскими группами критерии определения ОЛНЛ, эта редкая и гетерогенная группа ОЛ остается крайне сложной для точной диагностики. В данной работе представлен краткий анализ 97 случаев ОЛНЛ у детей. Такая существенная выборка (ОЛНЛ составляет менее 1% всех ОЛ детского возраста) получена по результатам централизованной диагностики ОЛ. С учетом полученных данных сформулированы рекомендации по анализу результатов иммунофенотипирования при диагностике ОЛНЛ, а также по интеграции цитометрических, цитоморфологических и генетических данных для точной диагностики и классификации этого типа ОЛ.

Ключевые слова: острые лейкозы неопределенной линейности, проточная цитометрия, иммунофенотипирование

Дёмина И.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 219–30. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-219-230

Immunophenotyping in the diagnosis of acute leukemias of ambiguous lineage. The results of centralized diagnosis and practical guidelines

I.A. Demina¹, E.V. Mikhailova¹, A.A. Semchenkova¹, T.Yu. Verzhbitskaya^{2,3}, Zh.V. Permikin^{2,4}, S.A. Kashpor¹, E.A. Zerkalenkova¹, G.A. Tsaur²⁻⁴, Yu.V. Olshanskaya¹, L.G. Fechina^{2,3}, A.I. Karachunskiy^{1,5}, G.A. Novichkova¹, A.M. Popov¹

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

²Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg

³Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg

⁴Ural State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Yekaterinburg

⁵N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Acute leukemias of ambiguous lineage (ALAL) are rare acute leukemias (AL) that exhibit specific features of more than one hematopoietic lineage or show no distinct evidence of lineage differentiation. Immunophenotyping plays a key role in the diagnosis and classification of ALAL. Despite the availability of diagnostic criteria for ALAL proposed by different expert groups, the accurate diagnosis of ALAL representing a rare and heterogeneous group of diseases remains a challenge. In this paper, we present a brief analysis of 97 pediatric ALAL cases. Such a large cohort of cases with ALAL (ALALs comprising less than 1% of all pediatric AL) was obtained as a result of the centralized diagnosis of AL. With regard to the obtained results, we have developed the guidelines for the interpretation of the results of immunophenotyping in the diagnosis of ALAL and for the integration of findings from flow cytometry, cytomorphology and genetic testing for the accurate diagnosis and classification of this group of AL.

Key words: acute leukemia of ambiguous lineage, flow cytometry, immunophenotyping

Demina I.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 219–30. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-219-230

Острые лейкозы неоднозначной линейности (ОЛНЛ) – редко встречающиеся виды острых лейкозов (ОЛ), характеризующиеся сложными нестандартными сочетаниями экспрессии

на опухолевых клетках как специфических В-линейных, Т-линейных, и миелоидных антигенов, так и маркеров ранних клеток-предшественников [1, 2]. Традиционно для систематизации ОЛНЛ приме-

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 21.02.2024

Принята к печати 14.03.2024



EDN: UDPCSA

Контактная информация:

Дёмина Ирина Андреевна,
врач клинической лабораторной
диагностики лаборатории
имунофенотипирования гемобластозов
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: idemina@mail.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 21.02.2024

Accepted 14.03.2024

Correspondence:

Irina A. Demina,
PhD, MD in Clinical Laboratory Medicine,
Leukemia Immunophenotyping Laboratory
at the Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology of Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
117997, Moscow, Russia
E-mail: idemina@mail.ru

няется терминология, сформулированная Европейской группой по иммунологической характеристике лейкозов (European Group for the Immunological Characterization of Leukemias, EGIL) [3], выделяющая отдельно острый бифенотипический лейкоз (ОБфЛ; признаки разных линий гемопоэза экспрессируются одними и теми же клетками), острый билинейный лейкоз (ОБлЛ; 2 популяции опухолевых клеток с иммунофенотипом разной линейной дифференцировки) и острый недифференцированный лейкоз (ОНдЛ) [3, 4]. В 2008 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объединила ОБлЛ и ОБфЛ в одну группу [1, 5], назвав их ОЛ со смешанным фенотипом (ОЛСФ, mixed-phenotype acute leukemia, MPAL).

Когда в костном мозге при иммунофенотипировании выявляются 2 отдельные популяции опухолевых клеток (ОБлЛ), то чаще всего сомнений в диагнозе не возникает [6–9]. В ситуации же выявления 1 популяции опухолевых клеток (остальные варианты ОЛНЛ), несущей маркеры разных клеточных линий [4, 6], вопрос правильного определения варианта лейкоза с учетом всех коэкспрессирующихся молекул становится чрезвычайно важным для решения о дальнейшем выборе максимально эффективной линии терапии [10, 11].

В классификации EGIL значимость экспрессии того или иного маркера для диагностики ОБфЛ учитывается в зависимости от его специфичности и полученные условные величины просто суммируются [3]. ОБфЛ диагностируют, когда для каждой линии (миелоидной и одной из лимфоидных) набирается более 2 баллов. Такой подход имеет как свои плюсы (простота и унифицированная значимость маркеров), так и минусы (сложность разграничения между лейкозом со множественными коэкспрессиями и ОЛСФ). Около 12% В-клеточных лейкозов с коэкспрессиями миелоидных антигенов могут быть отнесены к ОБфЛ по критериям EGIL, при этом имея явно выраженный лимфоидный иммунофенотип и довольно слабые проявления миелоидных черт [12]. В то же время рекомендации ВОЗ по определению специфических критериев линейности в случае наличия только 1 популяции опухолевых клеток существенно более строгие. Такое ужесточение диагностических критериев ведет к уменьшению числа некорректного определения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) или острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) как ОЛСФ.

По данным литературы, наиболее частыми вариантами ОЛСФ являются сочетания В-лимфоидной и миелоидной (В/Миело) линий, за которыми следует сочетание Т-лимфоидной и миелоидной (Т/Миело) линий. Трехлинейные ОЛСФ и сочетание 2 лимфоидных линий (В/Т) крайне редки.

Различными исследовательскими группами в разное время предлагались разные критерии для

определения ОЛСФ и четкой дифференцировки данного варианта ОЛ от ОЛЛ с коэкспрессией миелоидных и ОМЛ с коэкспрессией лимфоидных антигенов [3, 5, 11, 13–16]. При этом последние 15 лет все такие системы критериев принципиально строятся вокруг предложенной авторами классификации ВОЗ версии 2008 г. [5], уточняя и дополняя последнюю [4, 13–15, 17]. Кроме того, наиболее современные классификации ОЛНЛ подразумевают также учет цитогенетических и молекулярно-генетических данных [15, 17]. В итоге корректная диагностика ОЛНЛ остается достаточно сложной задачей, требующей не только корректной интерпретации результатов иммунофенотипирования, но и комплексной оценки всех лабораторных и клинических данных.

В данной работе представлены результаты централизованной диагностики ОЛНЛ у детей в Российской Федерации и практические рекомендации по иммунофенотипированию этой редкой формы ОЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В период с 2016 по 2022 г. в лабораториях ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва) и ГАУЗ СО ОДКБ (Екатеринбург) была проведена инициальная диагностика 9851 ребенку в возрасте от рождения до 18 лет с первично выявленным ОЛ. Иммунофенотипирование опухолевых клеток в костном мозге производили согласно стандарту российско-белорусской кооперативной группы по диагностике ОЛ у детей [18]. Цитогенетические и молекулярно-генетические исследования проводились в соответствии с рекомендациями Организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди обследованных детей ($n = 9851$) в 97 (0,98%) случаях были диагностированы ОЛНЛ по критериям классификации ВОЗ 2016 г. [13]. Среди этих 97 пациентов (58 мальчиков и 39 девочек, медиана возраста 8 лет) было одинаковое количество случаев с 1 и 2 опухолевыми популяциями (по 48 пациентов), а у 1 ребенка наблюдалось 3 опухолевые популяции [20]. Было выявлено 7 основных вариантов комбинаций маркеров (*рисунок 1*). Чаще всего ($n = 47$, 48,5%) встречался ОЛСФ типа В/Миело как с преобладающей В-линейной, так и с преобладающей миелоидной составляющей. Вторым по частоте вариантом являлся ОЛСФ варианта Т/Миело ($n = 29$, 29,9%). Также среди диагностированных ОЛСФ были отмечены крайне редкие варианты иммунофенотипов, такие как лейкозы со смешанным лимфоидным

иммунофенотипом (В/Т; $n = 3, 3,1\%$), сочетание В-линейной и недифференцированной опухолевых популяций ($n = 1, 1,0\%$), а также варианты с 3 отдельными опухолевыми популяциями, которые относились к 3 разным клеточным линиям ($n = 1, 1,0\%$). Кроме того, были выявлены 3 (3,1%) случая ОНДЛ, в которых опухолевые клетки не экспрессировали никаких линейно-специфических антигенов, а только ранние гемопоэтические маркеры. Случаи неклассифицируемого ОЛ (ОНклЛ), когда комбинации экспрессирующихся на клетках маркеров не позволяли отнести их к конкретной клеточной линии или ОЛСФ, но при этом также отсутствует экспрессия антигенов гемопоэтических предшественников, составили 13,4% от общего числа выявленных ОЛНЛ.

Среди диагностированного нами наиболее частого варианта ОЛСФ В/Миело более чем в 3/4 случаев имелись 2 относительно отдельные популяции, а в остальных – 1 опухолевая популяция несла маркеры и В-лимфоидной, и миелоидной линии (рисунки 2). Для Т/Миело ОЛСФ чаще встречались случаи с 1 популяцией, из 3 пациентов с вариантом В/Т 2 детей имели 1 популяцию и 1 ребенок – 2 популяции. Все недифференцированные и неклассифицируемые лейкозы имели только 1 опухолевую популяцию (рисунки 2).

Типичные примеры распределения клеточных популяций при ОЛСФ типов В/Миело и Т/Миело представлены на рисунках 3, 4. Несмотря на то, что показанные маркеры не являются строго линейно-специфическими (CD7, CD33), а некоторые входят в классификационную систему ВОЗ с определенными ограничениями (CD19), чаще всего именно их сочетания позволяют заподозрить ОЛСФ по более или менее типичному расположению лейкоэмических бластов на точечных графиках. К таким «типичным» распределениям относится прежде всего наличие 2 отдельных или связанных между собой опухолевых популяций, экспрессирующих разные линейные антигены, либо, наоборот, 1 опухолевая популяция с частичной экспрессией линейно-специфических маркеров разными клетками. Относительно распространенной является и одновременная экспрессия маркеров разных линий всеми опухолевыми клетками, но чаще всего такой тип распределения характерен для относительно ранних и ограниченно специфических антигенов, поэтому является лишь своего рода «индикатором» возможной смешанно-линейной природы лейкоза и требует уточнения при помощи более точных критериев.

Цитогенетические и молекулярно-генетические данные были доступны у 89 пациентов. Распределение результатов генетических вариантов ОЛНЛ показано на рисунке 5. Наиболее часто в исследуемой группе встречались различные перестройки

гена *KMT2A* ($n = 21, 23,6\%$) и $t(9;22)/BCR::ABL1$ ($n = 8, 9,0\%$), в то время как на долю других рекуррентных перестроек приходилось существенно меньшее количество случаев. Приблизительно в половине случаев рекуррентных хромосомных аберраций выявлено не было.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Имунофенотипирование играет ключевую роль в верификации линейной принадлежности опухолевых клеток при диагностике ОЛ [15, 18, 21]. Именно определенный при помощи проточной цитометрии антигенный профиль лейкоэмических бластов позволяет отнести опухоль к лимфоидной или миело-

Рисунок 1
Распределение вариантов ОЛНЛ в исследуемой группе ($n = 97$)

Figure 1
The distribution of subtypes of acute leukemia of ambiguous lineage (ALAL) in the group of interest ($n = 97$)
AUL – acute undifferentiated leukemia; MPAL – mixed-phenotype acute leukemias

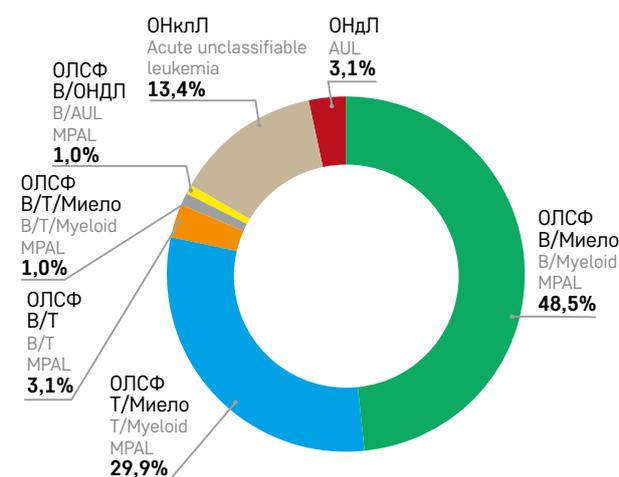
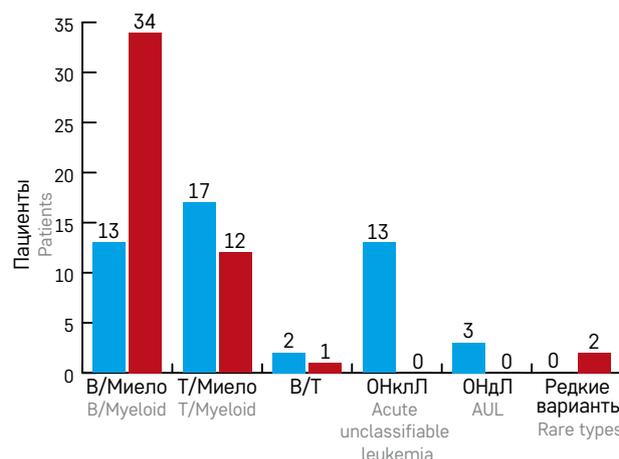


Рисунок 2
Распределение встречаемости вариантов ОЛНЛ с 1 (голубой цвет) или 2 (красный цвет) опухолевыми популяциями ($n = 97$)

Figure 2
The distribution of ALAL subtypes with one (blue color) and two (red color) malignant (blast) populations ($n = 97$)



идной линии. Одновременно с этим при отсутствии четких признаков линейности или наличия признаков дифференцировки сразу в нескольких направлениях только иммунофенотипирование позволяет диагностировать различные варианты ОЛНЛ [1, 4]. Отсутствие четких морфологических признаков и большое разнообразие цитогенетических и молекулярно-биологических аномалий не позволяют достоверно выявлять такие типы ОЛ другими методами. При этом диагностика всех вариантов ОЛНЛ является достаточно сложной задачей, требующей как корректно подобранной панели антител и правильно настроенного цитометра, так и наличия боль-

шого опыта у специалиста, проводящего анализ и интерпретацию цитометрических данных. Учитывая исключительную редкость как ОЛНЛ в целом (0,98% среди всех ОЛ у детей в нашем исследовании), так и отдельных вариантов ОЛНЛ, такие пациенты должны быть обследованы исключительно в рамках централизованного иммунофенотипирования в референсных лабораториях, предусмотренных в рамках крупных исследовательских групп. Кроме того, для окончательной классификации ОЛНЛ обязательно выполнение централизованного цитоморфологического и генетического анализа костного мозга.

Рисунок 3

Типичные примеры распределения клеточных популяций при ОЛСФ типов В/Миело (верхний ряд) и Т/Миело (нижний ряд) при анализе экспрессии ранних и наиболее чувствительных антигенов всех 3 основных направлений дифференцировки (CD7, CD19 и CD33)

А – пример коэкспрессии антигенов на 1 опухолевой популяции; Б – пример частичной гетерогенной экспрессии антигенов 1 опухолевой популяцией; В – пример определения 2 отдельных опухолевых популяций; Г – пример не полностью отделенных друг от друга опухолевых популяций, соединенных «перемычкой» из клеток с промежуточной экспрессией антигенов

Figure 3

Characteristic examples of the distribution of cell populations in B/Myeloid MPAL (upper row) and T/Myeloid MPAL (lower row) seen when analyzing expression patterns of the early and most sensitive antigens of all three main lineages of differentiation (CD7, CD19 and CD33)

A – an example of antigen co-expression on a single blast population; B – an example of partial heterogeneous expression of a single blast population; C – an example of recognizing two distinct blast populations; D – an example of blast cell populations that are not completely separate from each other; they are joined by a “bridge” of cells with intermediate antigen expression

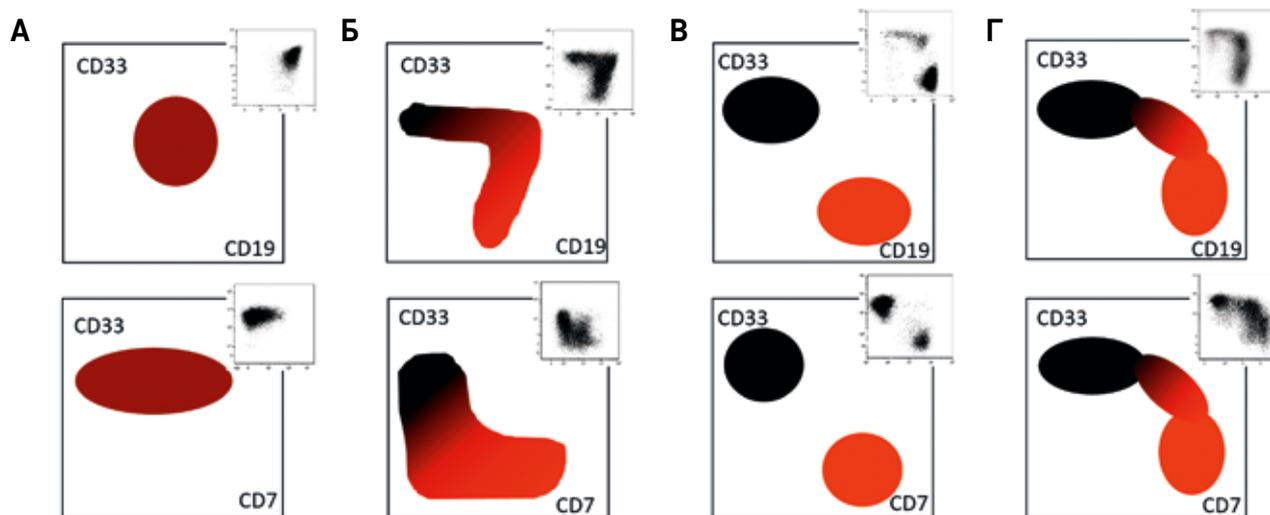


Рисунок 4

Типичные примеры распределения клеточных популяций при ОЛСФ типов В/Миело и Т/Миело при анализе линейно-специфичных внутриклеточных антигенов

Слева направо: пример определения 2 отдельных опухолевых популяций, пример гомогенной коэкспрессии антигенов на 1 опухолевой популяции, примеры частичной гетерогенной экспрессии антигенов 1 опухолевой популяцией

Figure 4

Characteristic examples of the distribution of cell populations in B/Myeloid MPAL and T/Myeloid MPAL seen when analyzing lineage specific intracellular antigens

From left to right: an example of recognizing two distinct blast populations; an example of homogeneous antigen co-expression in one blast population; examples of partial heterogeneous expression of antigens in one blast population

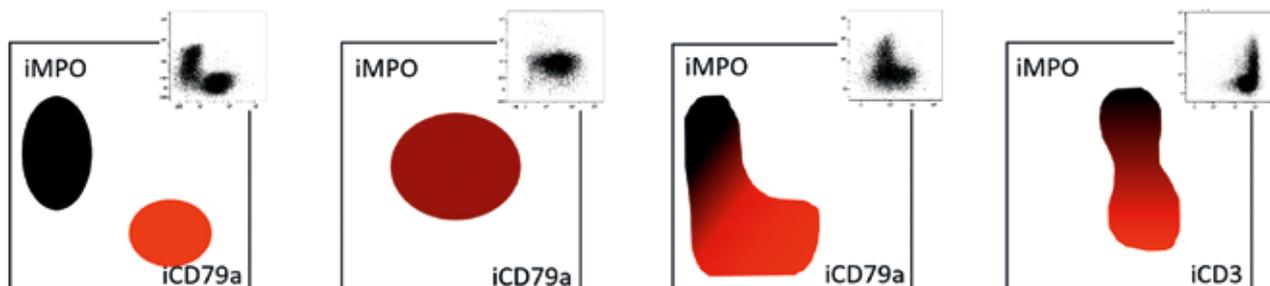


Рисунок 5
Распределение генетических aberrаций при ОЛНЛ в исследуемой группе ($n = 89$)

Figure 5
The distribution of genetic aberrations in ALAL in the group of interest ($n = 89$)



В проведенном нами исследовании ожидаемо большинство пациентов с ОЛНЛ имели ОЛСФ варианта В/Миело (48,5%), при этом чаще всего лейкоэмическая популяция в костном мозге была представлена 2 относительно отдельными компонентами, а иногда эти 2 опухолевые субпопуляции были «соединены» между собой, указывая на то, что практически все варианты ОЛСФ представляют собой единую опухоль вне зависимости от того, насколько различный иммунофенотип имеют лимфоидный и миелоидный компоненты. Для второго по частоте встречаемости варианта ОЛНЛ – ОЛСФ варианта Т/Миело – наоборот, было более характерно наличие только 1 опухолевой популяции с иммунофенотипическими признаками обеих линий, однако случаи с 2 лейкоэмическими популяциями встречались ненамного реже. В целом среди всех ОЛСФ в данном исследовании ($n = 81$) 2 опухолевые популяции и более встречались существенно чаще, чем 1 ($n = 49$ и $n = 32$ соответственно). Полученные данные о частоте встречаемости различных вариантов ОЛНЛ лишь частично согласуются с результатами других крупных исследований, которые, в свою очередь, плохо согласуются и между собой [10, 11, 22, 23]. Основных причин подобных расхождений две. Во-первых, ОЛНЛ является крайне редким и очень гетерогенным типом ОЛ, поэтому в разных публикациях в исследуемые когорты попадают очень разные пациенты. Во-вторых, сложность диагностики ОЛНЛ и возможность крайне неоднозначной интерпретации диагностических критериев также влияет на формирование исследуемых групп в разных работах.

В настоящее время в самых современных версиях 2 основных классификаций (ВОЗ [15] и ИСС [17]) в отдельные группы выделены ОЛСФ с определенными генетическими aberrациями (таблица 1). Необходимо отметить, что в нашем исследовании всего около 1/3 всех пациентов с ОЛНЛ могли быть отнесены к какой-либо из предложенных классификационных категорий ($n = 29$, 32,5% всех пациентов с известными генетическими данными), остальные же могли быть классифицированы только иммунофенотипически.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Так как иммунофенотипирование играет ведущую роль в диагностике ОЛНЛ, мы считаем важным указать на некоторые особенности диагностических алгоритмов, необходимых для правильной диагностики этой крайне редкой категории ОЛ. Ключевым фактором правильной интерпретации получаемых данных об экспрессии тех или иных наборов маркеров является четкое следование классификационным требованиям.

Для диагностики ОЛСФ мы рекомендуем использовать алгоритм, предложенный в классификации ВОЗ 2008 г. [5] и модифицированный в классификации ВОЗ 2016 г. [13], с небольшими изменениями нашей группы (таблица 2) [18]. Уточнения анализа цитометрических данных, предложенные обновленной группой ВОЗ в 2022 г. [15], нам кажутся сложными для гармонизации интерпретации данных, поэтому мы не рекомендуем их применять в буквальном виде в настоящее время. ОЛСФ диагностируют в тех случаях, когда бластные клетки экспрессируют одновременно специфические маркеры миелоидной и одной из лимфоидных линий (бифенотипический вариант, таблица 2 с модификациями из [5]), либо определяются 2 опухолевые популяции с разной линейной принадлежностью (билинейный вариант) [13]. Учитывая генетическую и клональную схожесть отдельных частей опухолевой популяции при билинейной разновидности ОЛСФ [9, 20, 22], предпочтительно не разграничивать билинейный и бифенотипический варианты, а в обоих случаях диагностировать ОЛСФ, используя для этого лишь разные подходы: определение экспрессии специфических маркеров (таблица 2) или 2 отдельных популяций опухолевых клеток соответственно [13].

В случае обнаружения 2 отдельных популяций опухолевых клеток с разной линейной принадлежностью сложностей с установлением ОЛСФ теоретически возникать не должно. Тем не менее могут существовать 2 группы сложностей в диагностике такого ОЛСФ.

Первая – сложность в обнаружении «второй» лейкоэмической популяции при очевидной «основной».

Таблица 1
Варианты ОЛСФ в классификациях ВОЗ и ICC 2022 г. [15, 17]

Table 1
MPAL according to the WHO classification and the ICC adopted in 2022 [15, 17].

ВОЗ-2022 2022 WHO classification	ICC-2022 2022 ICC
ОЛСФ с определенными генетическими перестройками MPAL with defining genetic alterations	
ОЛСФ с <i>BCR::ABL1</i> MPAL with <i>BCR::ABL1</i>	ОЛСФ с <i>BCR::ABL1</i> MPAL with <i>BCR::ABL1</i>
ОЛСФ с <i>KMT2A</i> -г MPAL with <i>KMT2A</i> -rearrangement	ОЛСФ с <i>KMT2A</i> -г MPAL with <i>KMT2A</i> -rearrangement
ОЛСФ с <i>ZNF384</i> -г MPAL with <i>ZNF384</i> -rearrangement	ОЛСФ с <i>ZNF384</i> -г MPAL with <i>ZNF384</i> -rearrangement
ОЛСФ с <i>BCL11B</i> -г MPAL with <i>BCL11B</i> -rearrangement	ОЛСФ с активацией <i>BCL11B</i> MPAL with <i>BCL11B</i> activation
ОЛСФ, определенные иммунофенотипически MPAL defined immunophenotypically	
ОЛСФ В/Миело В/Myeloid MPAL	ОЛСФ В/Миело В/Myeloid MPAL
ОЛСФ Т/Миело Т/Myeloid MPAL	ОЛСФ Т/Миело Т/Myeloid MPAL
ОЛСФ, редкие варианты MPAL, rare types	ОЛСФ В/Т/Миело В/Т/Myeloid MPAL
	ОЛСФ В/Т В/Т MPAL

Таблица 2
Специфические признаки разных линий гемопоэза, используемые для диагностики ОЛСФ

Table 2
Specific features of different hematopoietic lineages used in the diagnosis of MPAL

Линия Lineage	Критерий Criterion
В-линия B lineage	Яркая экспрессия CD19 и как минимум одного из следующих антигенов: CD10, CD22, iCD79a или слабая экспрессия CD19 и яркая экспрессия как минимум двух из следующих антигенов: CD10, CD22, iCD79a Strong expression of CD19 and at least one of the following antigens: CD10, CD22, iCD79a or weak expression of CD19 and strong expression of at least two of the following antigens: CD10, CD22, iCD79a
Т-линия T lineage	Цитоплазматическая экспрессия CD3, определенная методом проточной цитометрии с использованием антител к ε-цепи рецептора Cytoplasmic CD3 expression as determined by flow cytometry using an anti-CD3 ε-chain antibody
Миелоидная линия Myeloid lineage	МПО, определенная любым методом, или не менее двух моноцитарных антигенов (CD11c, CD64, CD14, лизоцим) Myeloperoxidase expression assessed by any technique or expression of at least two monocytic antigens (CD11c, CD64, CD14, lysozyme)

Примечание. i – внутриклеточный антиген.
Note. i, an intracellular antigen

Ключевых моментов в решении этой проблемы несколько.

- При обзорном иммунофенотипировании костного мозга необходимо начинать выделение опухолевой популяции по маркеру CD45 [18]. Это позволяет избежать потери опухолевых клеток, которая может произойти при гейтировании сразу по какому-либо линейному маркеру, поскольку в этом случае в дальнейший анализ могут не попасть опухолевые клетки другой линейной направленности.

- В 1 комбинацию антител для обзорного (первичного) иммунофенотипирования должны входить ранние и наиболее чувствительные антигены всех 3 основных направлений дифференцировки (например, CD7, CD19 и CD33), что позволяет оценить распределение клеток на точечных графиках именно по экспрессии антигенов разных линий. В данном контексте не имеет значения то, что эти антигены не являются строго линейно-специфическими, а могут коэкспрессироваться на ОЛ другой линии (CD7 и CD19 на ОМЛ, а CD33 – на ОЛЛ). Ключевой задачей становится анализ распределения клеток, зачастую являющегося достаточно типичным для ОЛСФ (рисунки 3, 4), позволяющий идентифицировать 2 опухолевые популяции вне зависимости от того, расположены они отдельно друг от друга на графике или соединены между собой.

- Чаще всего лейкоэмические популяции разных линий не полностью отделены друг от друга на точечных графиках, а соединены своего рода «перемычкой» из клеток, имеющих промежуточный уровень экспрессии линейных антигенов. Эти клетки могут быть видны при обзорном иммунофенотипировании на стандартных графиках, отображающих экспрессию одного из лимфоидных маркеров и значение параметра бокового светорассеяния (SSC) по снижению уровня экспрессии и одновременному повышению SSC, что характерно для «миелоидного» компонента опухоли (рисунок 6). Даже при очень малом количестве такие клетки достаточно заметны и являются косвенным индикатором возможного ОЛСФ, требующим обратить внимание на экспрессию антигенов разных линий. Так как существенное большинство ОЛСФ представлено именно наличием 2 опухолевых популяций (рисунок 2), такой подход является достаточно универсальным для диагностики ОЛСФ в целом.

- Выявленные при исследовании костного мозга «подозрительные» популяции клеток (любой линии) на фоне основной лейкоэмической составляющей должны быть исследованы с применением алгоритмов оценки минимальной остаточной болезни, так как именно такие подходы максимально эффективны в дифференцировании нормальных и опухолевых клеток. В случае отсутствия явных лейкоз-ассоциированных аберраций антигенного профиля, но при наличии косвенных признаков ОЛСФ клетки могут быть выделены в виде чистой популяции при помощи проточной сортировки для дальнейших генетических исследований, позволяющих доказать их опухолевую природу [24, 25].

Вторая группа сложностей при диагностике ОЛСФ с 2 лейкоэмическими компонентами – сложности в анализе, интерпретации и описании иммунофенотипа выявленных субпопуляций бластов. Наша группа рекомендует следующие особенности

алгоритма анализа данных при таком варианте ОЛСФ.

- Следует учитывать, что для билинейного варианта ОЛСФ не должны применяться критерии, указанные в таблице 2 [13], поскольку они разработаны для оценки линейной принадлежности опухолевых клеток с максимальной специфичностью, поэтому для определения направления дифференцировки каждой отдельной опухолевой популяции являются излишне строгими. Для этого достаточно выполнение стандартных критериев определения доминирующей линии при иммунофенотипировании ОЛ [18, 21].

- В случае, если популяции имеют между собой своего рода «перемычку» из клеток, имеющих разный уровень экспрессии линейных маркеров, сложность

может заключаться в определении правильного места, где можно эти популяции разделить. Для уточнения места проведения раздела можно использовать вспомогательные варианты отображения клеток на точечных графиках, такие как распределение по плотности и построение контурных изображений (рисунок 7).

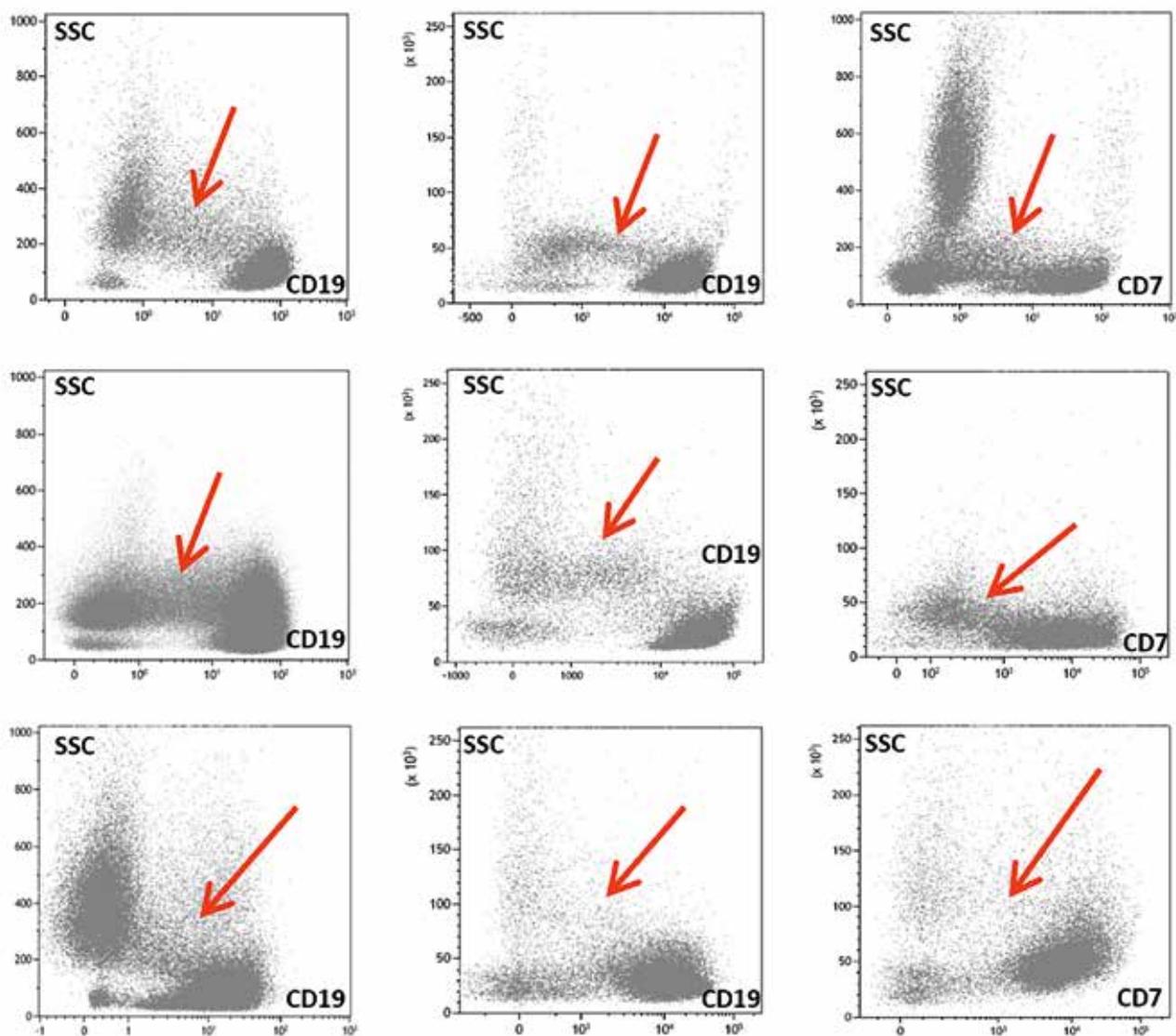
- При наличии в костном мозге нескольких четко идентифицируемых методом проточной цитометрии популяций опухолевых клеток их раздельное описание приемлемо далеко не во всех случаях. Так, при ОМЛ вследствие «созревания» лейкоэмических бластов нередко может наблюдаться несколько субпопуляций опухолевых клеток, различающихся иммунофенотипически и цитоморфологически. Однако раздельное описание опухолевого пула в данном

Рисунок 6

Примеры точечных графиков экспрессии ранних лимфоидных антигенов (CD19 – левый и средний столбцы, CD7 – правый столбец) и значения параметра SSC клеток костного мозга при диагностике ОЛСФ. «Промежуточные» между лимфоидной и миелоидной клеточные популяции указаны красными стрелками

Figure 6

Examples of dot plots showing the expression of early lymphoid antigens (CD19: the left and middle columns; CD7: the right column) and side scatter (SSC) of bone marrow cells in the diagnosis of MPAL. Cell populations “intermediate” between lymphoid and myeloid lineages are shown by red arrows



случае не приведет к изменению итогового заключения о миелоидной природе опухолевых клеток, но может ввести в заблуждение лечащего врача. Раздельное описание нескольких популяций бластов должно выполняться только в том случае, если указанные популяции относятся к разным линиям гемопоэза или если как минимум одна из них соответствует ОЛСФ.

- Иммунофенотип каждой части опухолевой популяции должен быть проанализирован отдельно. Для этого изменяется стандартный алгоритм проведения иммунофенотипирования, и обязательно выполняется анализ в соответствии не с одним, а с двумя возможными направлениями дифференцировки опухолевых клеток.

- В том случае, если меньшая популяция составляет 10% и более всех ядросодержащих клеток (ЯСК) костного мозга, иммунофенотип обеих субпопуляций описывается одинаково подробно. Если доля меньшей части лейкоэмического пула составляет более 5%, но не превышает 10% – подробно описывается антигенный профиль большей популяции, но после основной части заключения делается уточ-

нение, что выявляется минорная популяция клеток, возможно, опухолевых, с указанием их процента от ЯСК, суммарного иммунофенотипа и при возможности линейной принадлежности. В том случае, если меньшая опухолевая популяция составляет менее 5% всех ЯСК, она не упоминается в заключении, но предпочтительно ее указывать в рабочем листе лаборатории для последующего анализа в случае изменения иммунофенотипа ОЛ в процессе лечения.

При бифенотипическом варианте ОЛСФ, т. е. наличии только 1 опухолевой популяции, сочетающей иммунофенотипические признаки разных линий дифференцировки, диагностика целиком зависит от выполнения классификационных критериев (таблица 2). Единственным существенным требованием кроме точного выполнения критериев диагностики является достаточное количество маркеров в панели антител, позволяющее эти критерии выполнить, а также адекватный подбор антител и флуорохромов для классифицирующих антигенов, корректные пробоподготовка и настройка проточного цитометра во избежание ложной оценки экспрессии данных маркеров. Суще-

Рисунок 7

Примеры визуализации разделения опухолевых популяций на точечных графиках (левый столбец), графиках плотности (средний столбец) и контурных графиках (правый столбец) при ОЛСФ вариантов В/Миело (верхний ряд) и Т/Миело (нижний ряд)

Figure 7
Examples of visual delineation of different blast cell populations in dot plots (left column), color density plots (middle column) and contour plots (right column) in B/Myeloid MPAL (upper row) and T/Myeloid MPAL (lower row)

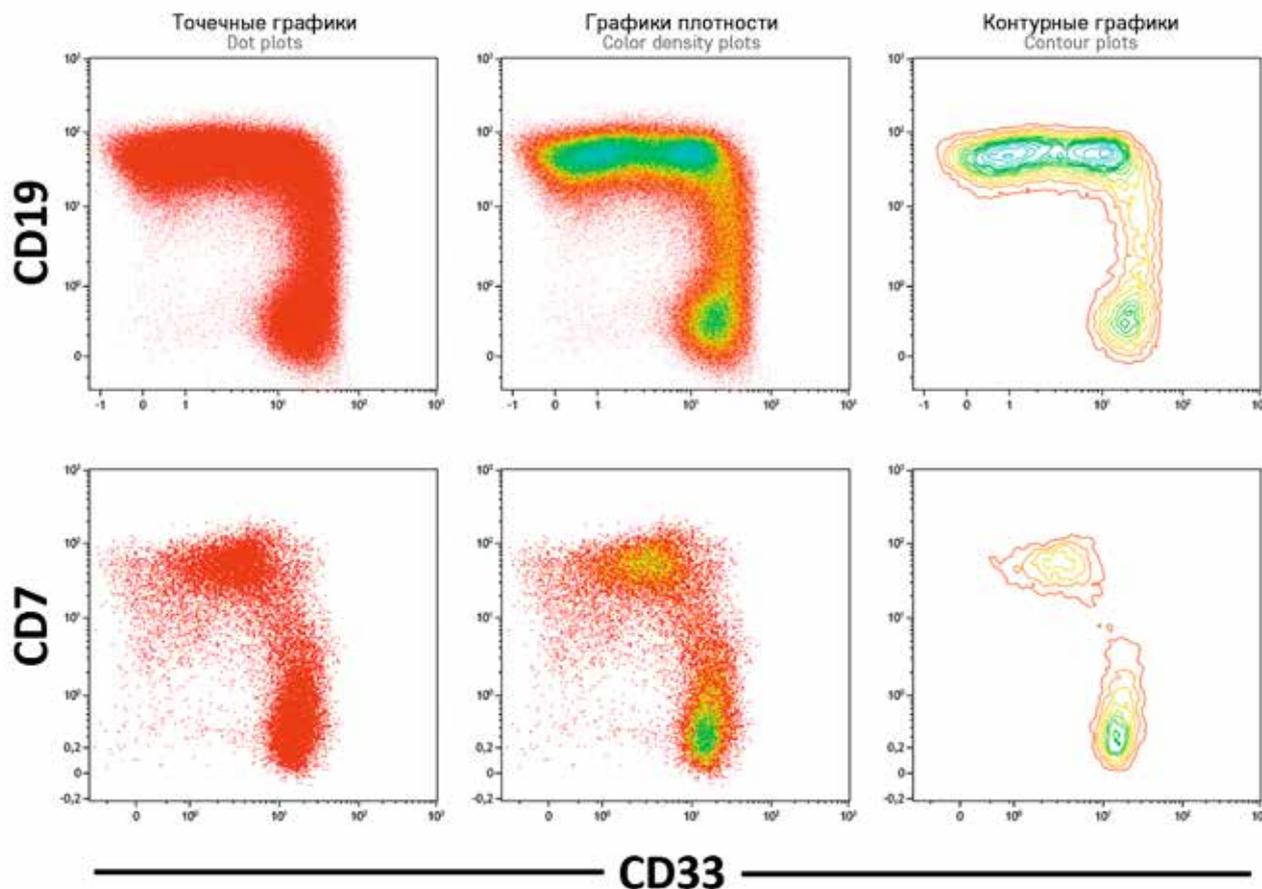
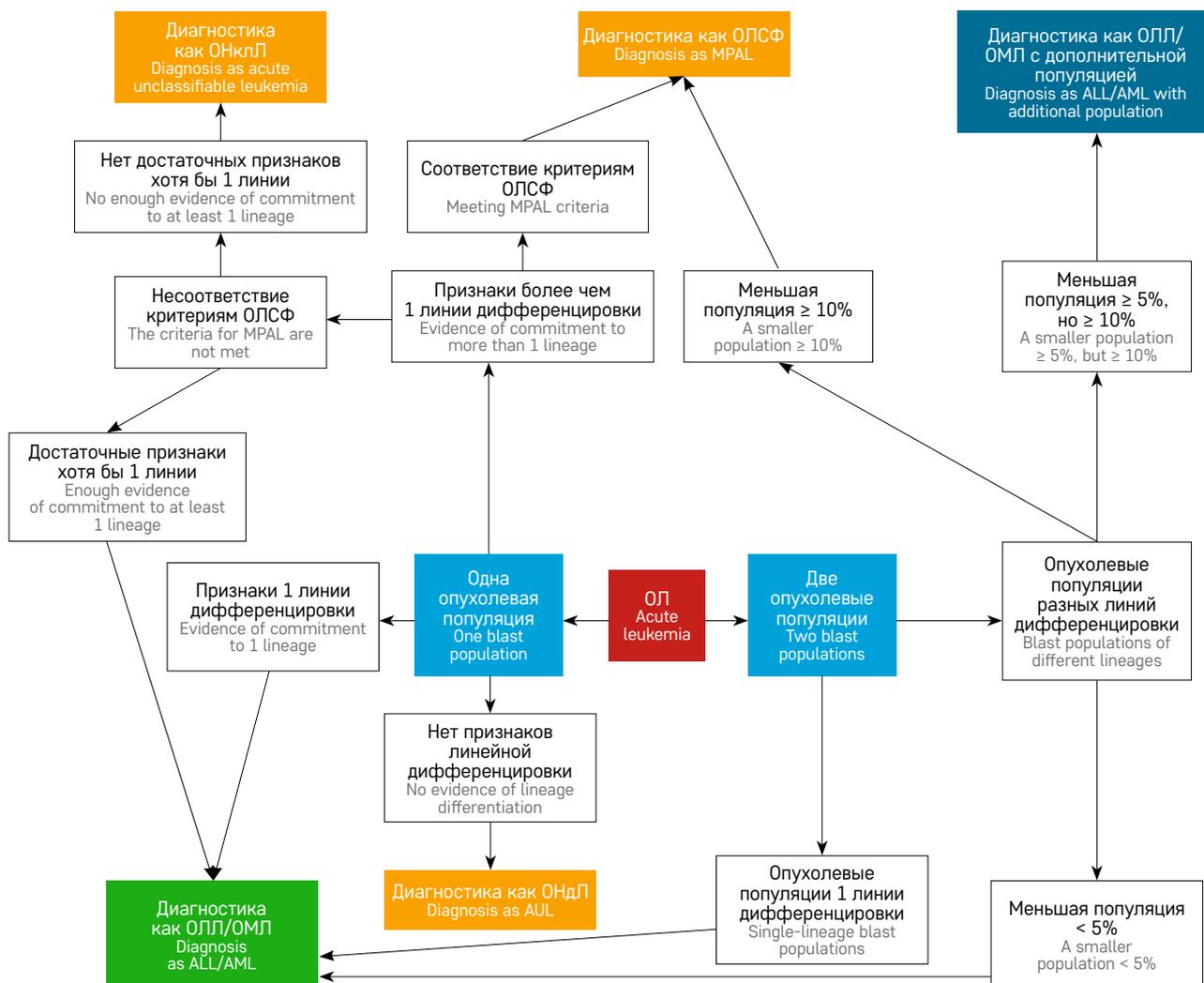


Рисунок 8

Алгоритм анализа цитометрических данных для дифференциальной диагностики ОЛЛ/ОМЛ и различных вариантов ОЛНЛ

Figure 8

An algorithm of flow cytometry data analysis for the differential diagnosis between acute lymphoblastic leukemia (ALL)/acute myeloid leukemia (AML) and various types of ALAL



ственным нюансом, упомянутым в классификации ВОЗ 2016 г., является также возможное иммунофенотипическое определение миелопероксидазы (МПО) у пациентов с относительно «типичным» В-линейным ОЛЛ [13, 26–29]. Такие случаи должны анализироваться отдельно, с дополнительным вниманием к результатам цитохимического и генетического исследований.

Кроме ОЛСФ существуют еще 2 достаточно редкие категории ОЛНЛ, требующие тем не менее существенного внимания при диагностике. В случае отсутствия экспрессии линейно-специфических антигенов и яркой тотальной экспрессии маркеров клеток-предшественников диагностируется ОНдЛ. От ОНдЛ необходимо отличать ОЛ, не имеющий определенных признаков линейной дифференцировки, но и не экспрессирующий маркеры ранних гемопоэтических предшественников (CD34, CD99, CD117, TdT

и др.). В таких случаях могут гетерогенно экспрессироваться антигены разных линий гемопоэза, но (ключевой нюанс!) не будут выполнены критерии определения ни одной линии, разработанные для иммунофенотипирования ОЛ. Мы рекомендуем определять такой лейкоз как ОНклЛ, поскольку он не может быть отнесен к какой-либо классификационной категории по имеющимся признакам. Этот вариант ОЛ примерно соответствует «ОЛНЛ, не определенному иным способом» из классификации ВОЗ, однако рекомендуемый нами термин представляется более удачным и точно описывающим иммунофенотип ОЛ. Среди всех ОЛНЛ ОНклЛ является третьим по частоте встречаемости в нашей популяции (13,4% пациентов), поэтому его диагностика также заслуживает внимания.

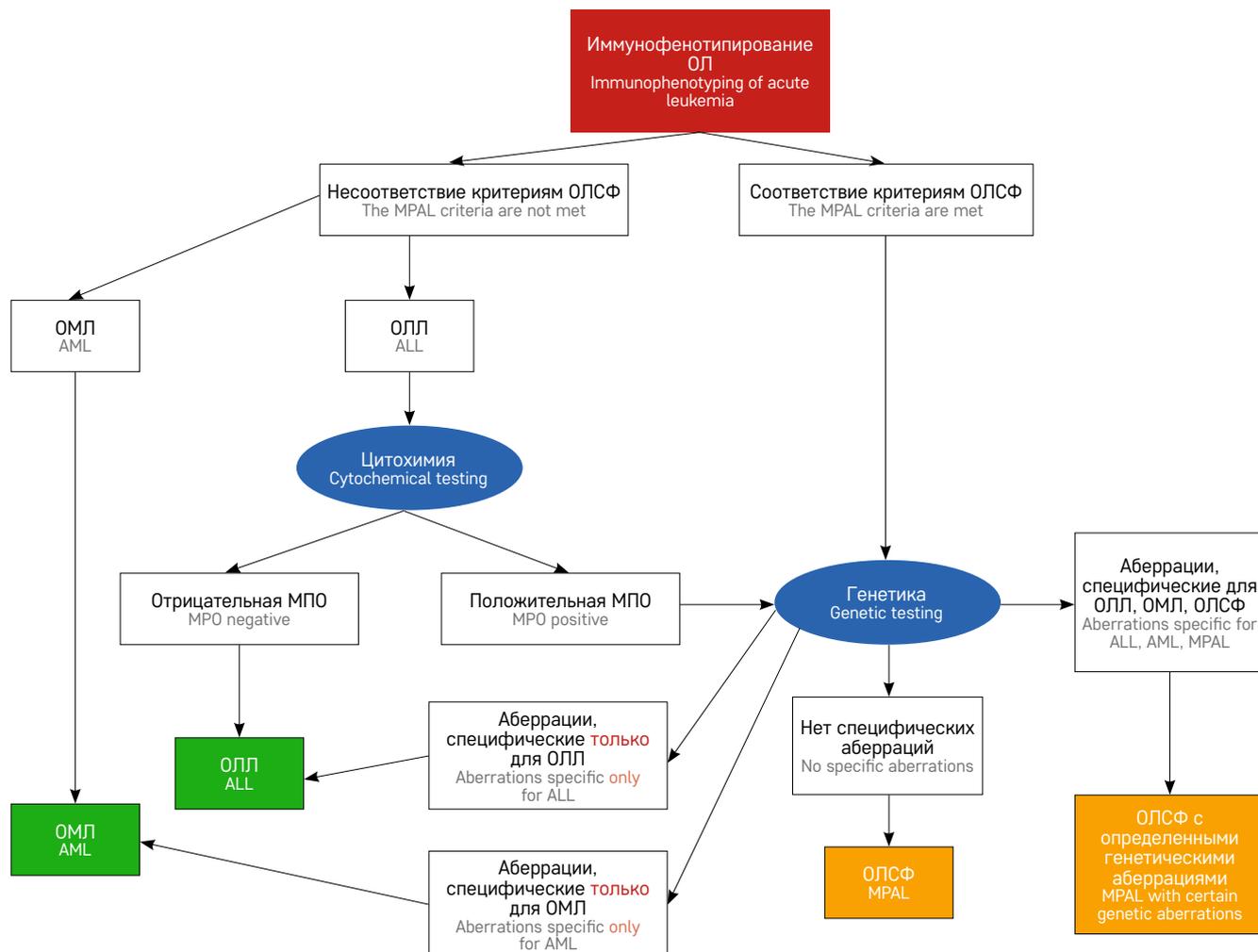
Суммарно алгоритм анализа цитометрических данных для дифференциальной диагностики

Рисунок 9

Суммарный алгоритм интеграции иммунофенотипирования, цитохимии, цитогенетики и молекулярной генетики для диагностики ОЛСФ

Figure 9

A summary algorithm for integrating immunophenotyping, cytochemical, cytogenetic, and molecular genetic testing in establishing the diagnosis of MPAL
MPO – myeloperoxidase



ОЛЛ/ОМЛ и различных вариантов ОЛНЛ представлен на *рисунке 8*.

Необходимо отметить, что полноценная диагностика ОЛСФ включает не только иммунофенотипирование, но и анализ результатов цитоморфологического (прежде всего цитохимического) и цитогенетического/молекулярно-генетического исследований. Цитохимическое определение активности МПО является безусловным признаком миелоидной дифференцировки при диагностике ОЛСФ [5], следовательно, результаты цитохимического исследования должны обязательно учитываться при диагностике ОЛЛ. Наличие определенных генетических перестроек позволяет более точно диагностировать ОЛСФ (*таблица 1*). Кроме того, в классификации ВОЗ 2016 г. указано, что даже при соответствии иммунофенотипа ОЛ критериям ОЛСФ при выявлении генетических перестроек, харак-

терных только для ОМЛ или ОЛЛ, и относящих эти ОЛ в какую-либо классификационную категорию внутри ОМЛ или ОЛЛ (например, *RUNX1::RUNX1T1* или *ETV6::RUNX1* соответственно), такие пациенты не могут быть диагностированы как ОЛСФ [13]. Суммарный алгоритм интеграции иммунофенотипирования, цитохимии, цитогенетики и молекулярной генетики для диагностики ОЛСФ представлен на *рисунке 9*.

В заключении по результатам иммунофенотипирования ОЛСФ должно быть указано, что иммунофенотип опухолевой популяции соответствует ОЛСФ, или МРАЛ (более распространенное сокращение), с указанием конкретного варианта (например, В/Миело или др.) либо ОНкЛЛ, либо ОНДЛ. Алгоритм описания ОЛСФ с 2 опухолевыми популяциями детально расписан выше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ОЛНЛ являются редкой и крайне гетерогенной группой ОЛ, составляющей менее 1% всех случаев ОЛ у детей. При этом как варианты ОЛНЛ, так и выявляемые генетические aberrации настолько разнообразны, что корректная диагностика ОЛНЛ становится достаточно сложной задачей. Представленные в данной работе диагностические рекомендации, основанные на опыте централизованного иммунофенотипирования и генетической диагностики ОЛ, позволяют проводить эффективную и надежную диагностику ОЛНЛ у пациентов любого возраста в рамках как многоцентровых исследований, так и отдельных лабораторий.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Demina I.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4317-2094>
Mikhailova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3450-0498>
Verzhbitskaya T.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9329-1828>
Kashpor S.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5220-7412>
Zerkalnikova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9634-5828>
Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>
Fechina L.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1885-3912>
Karachunskiy A.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9300-198X>
Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>
Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>

Литература

- Borowitz M.J. Mixed phenotype acute leukemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2014; 86 (3): 152–3.
- Bene M.C., Porwit A. Acute leukemias of ambiguous lineage. *Semin Diagn Pathol* 2012; 29 (1): 12–8.
- 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.
- Bene M.C. Biphenotypic, bilineal, ambiguous or mixed lineage: strange leukemias! *Haematologica* 2009; 94 (7): 891–3.
- Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A., Brunning R.D., Borowitz M.J., Porwit A., et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114 (5): 937–51.
- Porwit A., Bene M.C. Acute leukemias of ambiguous origin. *Am J Clin Pathol* 2015; 144 (3): 361–76.
- Porwit A., Bene M.C. Multiparameter flow cytometry applications in the diagnosis of mixed phenotype acute leukemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2019; 96 (3): 183–94.
- Charles N.J., Boyer D.F. Mixed-Phenotype Acute Leukemia: Diagnostic Criteria and Pitfalls. *Arch Pathol Lab Med* 2017; 141 (11): 1462–8.
- Kotrova M., Musilova A., Stuchly J., Fiser K., Starkova J., Mejstrikova E., et al. Distinct bilineal leukemia immunophenotypes are not genetically determined. *Blood* 2016; 128 (18): 2263–6.
- Hrusak O., de Haas V., Stancikova J., Vkrmanova B., Janotova I., Mejstrikova E., et al. International cooperative study identifies treatment strategy in childhood ambiguous lineage leukemia. *Blood* 2018; 132 (3): 264–76.
- Matutes E., Pickl W.F., Van't Veer M., Morilla R., Swansbury J., Strobl H., et al. Mixed-phenotype acute leukemia: clinical and laboratory features and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008 classification. *Blood* 2011; 117 (11): 3163–71.
- Seegmiller A.C., Kroft S.H., Karandikar N.J., McKenna R.W. Characterization of immunophenotypic aberrancies in 200 cases of B acute lymphoblastic leukemia. *Am J Clin Pathol* 2009; 132 (6): 940–9.
- Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M.J., Le Beau M.M., et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127 (20): 2391–405.
- Weinberg O.K., Arber D.A. Mixed-phenotype acute leukemia: historical overview and a new definition. *Leukemia* 2010; 24 (11): 1844–51.
- Khoury J.D., Solary E., Abla O., Akkari Y., Alaggio R., Apperley J.F., et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia* 2022; 36 (7): 1703–19.
- Mejstrikova E., Volejnikova J., Fronkova E., Zdrahalova K., Kalina T., Sterba J., et al. Prognosis of children with mixed phenotype acute leukemia treated on the basis of consistent immunophenotypic criteria. *Haematologica* 2010; 95 (6): 928–35.
- Weinberg O.K., Arber D.A., Dohner H., Mullighan C.G., Orgel E., Porwit A., et al. The International Consensus Classification of acute leukemias of ambiguous lineage. *Blood* 2023; 141 (18): 2275–7.
- Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Дёмина И.А., Михайлова Е.В., Семченкова А.А. и др. Диагностическое иммунофенотипирование острых лейкозов. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов

- у детей. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2023; 22 (1): 165–77. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-165-177 [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Movchan L.V., Demina I.A., Mikhailova E.V., Semchenkova A.A., et al. Flow cytometry in acute leukemia diagnostics. Guidelines of Russian-Belarusian multicenter group for pediatric leukemia studies. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (1): 165–77. (In Russ.)].
19. Цаур Г.А., Ольшанская Ю.В., Обухова Т.Н., Судариков А.Б., Лазарева О.В., Гиндина Т.Л. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая диагностика онкогематологических заболеваний: позиция Организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии. *Гематология и трансфузиология* 2023; 68 (1): 129–43. DOI: 10.35754/0234-5730-2023-68-1-129-143 [Tsaur G.A., Olshanskaya Yu.V., Obukhova T.N., Sudarikov A.B., Lazareva O.V., Gindina T.L. Cytogenetic and molecular genetic diagnostics in oncohematological disorders: a position paper of the Organization of Molecular Geneticists in Oncology and Oncohematology. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology* 2023; 68 (1): 129–43. (In Russ.)].
20. Demina I., Zerkalenkova E., Semchenkova A., Volchkov E., Boychenko E., Prudnikova M., et al. Rare case of pediatric trilineal mixed-phenotype acute leukemia with t(11;19)(q23.3;p13)/KMT2A::ELL. *Leuk Res* 2023; 125: 107018.
21. Dworzak M.N., Buldini B., Gaipa G., Ratei R., Hrusak O., Luria D., et al. AIEOP-BFM consensus guidelines 2016 for flow cytometric immunophenotyping of Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2018; 94 (1): 82–93.
22. Alexander T.B., Gu Z., Iacobucci I., Dickerson K., Choi J.K., Xu B., et al. The genetic basis and cell of origin of mixed phenotype acute leukaemia. *Nature* 2018; 562 (7727): 373–9.
23. Shi R., Munker R. Survival of patients with mixed phenotype acute leukemias: A large population-based study. *Leuk Res* 2015; 39 (6): 606–16.
24. Семченкова А.А., Илларионова О.И., Дёмина И.А., Михайлова Е.В., Зеркаленкова Е.А., Захарова Е.С., et al. Рекомендации по применению проточной сортировки клеток в диагностике и мониторинге острых лейкозов. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (4): 186–205. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-186-205 [Semchenkova A.A., Illarionova O.I., Demina I.A., Mikhailova E.V., Zerkalenkova E.A., Zakharova E.S., et al. Guidelines for the use of flow cell sorting in diagnosis and monitoring of acute leukemia. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (4): 186–205 (In Russ.)].
25. Semchenkova A., Zerkalenkova E., Demina I., Kashpor S., Volchkov E., Zakharova E., et al. Recognizing Minor Leukemic Populations with Monocytic Features in Mixed-Phenotype Acute Leukemia by Flow Cell Sorting Followed by Cytogenetic and Molecular Studies: Report of Five Exemplary Cases. *Int J Mol Sci* 2023; 24 (6): 5260.
26. McGinnis E., Yang D., Au N., Morrison D., Chipperfield K.M., Setiadi A.F., et al. Clinical and laboratory features associated with myeloperoxidase expression in pediatric B-lymphoblastic leukemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2021; 100 (4): 446–53.
27. Oberley M.J., Li S., Orgel E., Phei Wee C., Hagiya A., O’Gorman M.R.G. Clinical Significance of Isolated Myeloperoxidase Expression in Pediatric B-Lymphoblastic Leukemia. *Am J Clin Pathol* 2017; 147 (4): 374–81.
28. Raikar S.S., Park S.I., Leong T., Jaye D.L., Keller F.G., Horan J.T., et al. Isolated myeloperoxidase expression in pediatric B/myeloid mixed phenotype acute leukemia is linked with better survival. *Blood* 2018; 131 (5): 573–7.
29. Savasan S., Buck S., Gadageel M., Gabali A. Flow cytometric false myeloperoxidase-positive childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2018; 94 (3): 477–83.

Резолюция Совета экспертов по вопросу критериев перевода пациентов детского возраста с гемофилией В на препарат албутрепенонаког альфа

19 марта 2024 г. в онлайн-режиме состоялось совещание экспертов по вопросу критериев перевода пациентов детского возраста с гемофилией В на препарат албутрепенонаког альфа.

Совещание прошло в следующем составе:

Председатель:

Новичкова Галина Анатольевна,

доктор медицинских наук, профессор, главный внештатный детский специалист онколог-гематолог Министерства здравоохранения Российской Федерации, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Модератор:

Жарков Павел Александрович,

доктор медицинских наук, заведующий отделом патологии гемостаза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Эксперты:

Бабаева Татьяна Николаевна,

кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск

Вдовин Владимир Викторович,

врач-гематолог высшей квалификационной категории ГБУЗ г. Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

Лаврентьева Инна Николаевна,

врач-гематолог высшей квалификационной категории, заведующая гематологическим отделением ГБУЗ г. Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

Лебедев Владимир Вениаминович,

кандидат медицинских наук, заведующий отделением онкологии и гематологии с химиотерапией ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар

Шиллер Екатерина Эдуардовна,

врач-гематолог высшей квалификационной категории, главный внештатный специалист детский гематолог Московской области, Москва

Несмотря на значительный прогресс в терапии гемофилии, достигнутый за последнее время, в лечении пациентов с данным заболеванием сохраняется ряд нерешенных проблем. К ним относятся недостаточный контроль кровотечений, прогрессирование артропатии, слож-

ности с проведением частых внутривенных инфузий [1].

У пациентов детского возраста эти проблемы стоят особенно остро, так как частые кровотечения в суставы у них могут привести к существенному поражению опорно-двигательного аппарата и, соответственно, к снижению способ-

ности к самообслуживанию вплоть до инвалидизации [2].

Для пациентов с гемофилией В ситуация осложняется очень ограниченным набором доступных терапевтических опций: в рамках программы высокочрезвычайных нозологий для них доступны только плазматические препараты фактора свертывания IX (FIX) и рекомбинантный препарат со стандартным периодом полувыведения [3].

При этом в России зарегистрирован один из представителей группы препаратов FIX с увеличенным периодом полувыведения – албутрепенонаког альфа [4]. Этот препарат позволяет существенно сократить количество необходимых инфузий в режиме профилактики и в то же время повысить эффективность контроля кровотечений [5].

В связи с этим мы полагаем необходимым рассмотреть вопрос о возможности обеспечения пациентов детского возраста с гемофилией В препаратом FIX с увеличенным периодом полувыведения албутрепенонаког альфа.

Относительно определения того, какие пациенты детского возраста могут быть переведены на албутрепенонаког альфа, предлагаем следующий подход.

Ранее леченные пациенты с неингибиторной формой гемофилии В, получающие адекватное профилактическое лечение препаратом FIX и отвечающие одному из следующих критериев:

- сохранение более 2 эпизодов спонтанных гемартрозов в год;
- появление признаков хронического синовита или прогрессирование артропатии;
- возникновение жизнеугрожающих кровотечений.

Или невозможность проведения адекватной профилактики по месту жительства (из-за сложностей с венозным доступом, удаленностью от лечебного учреждения и других объективных причин).

Рекомендуемый профилактический режим дозирования:

- дети младше 12 лет: 35–50 МЕ/кг массы тела 1 раз/нед;
- дети 12 лет и старше: стартовый режим 35–50 МЕ/кг массы тела 1 раз/нед. Некоторые пациенты, у которых достигнут хороший контроль над кровотечениями при введении препарата 1 раз/нед, могут быть переведены на режим 75 МЕ/кг с интервалом в 10 или 14 дней.

Литература

1. Зозуля Н.И., Дмитриева О.С. Нерешенные вопросы лечения взрослых пациентов с гемофилией А. Терапевтический архив 2022; 94 (1): 77–82. DOI: 10.26442/00403660.2022.01.201321
2. Клинические рекомендации. Гемофилия. ID: 127. 2023. Рубрикатор клинических рекомендаций МЗ РФ. [Электронный ресурс] URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/127_2 (дата обращения 02.02.2024).
3. Перечень лекарственных препаратов, предназначенных для обеспечения лиц, больных гемофилией, муковисцидозом, гипофизарным нанизмом, болезнью Гоше, злокачественными новообразованиями лимфоидной, кроветворной и родственной им тканей, рассеянным склерозом, гемолитико-уремическим синдромом, юношеским артритом с системным началом, мукополисахаридозом I, II и VI типов, апластической анемией неуточненной, наследственным дефицитом факторов II, VII, X, лиц после трансплантации органов и тканей.
4. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Идельвион®, ЛП-007569, дата государственной регистрации 01.11.2021.
5. Kenet G., Chambost H., Male C., Lambert T., Halimeh S., Chernova T., et al. Long-acting recombinant fusion protein linking coagulation factor IX with albumin (rIX-FP) in children. Results of a phase 3 trial. *Thromb Haemost* 2016; 116: 659–68.

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