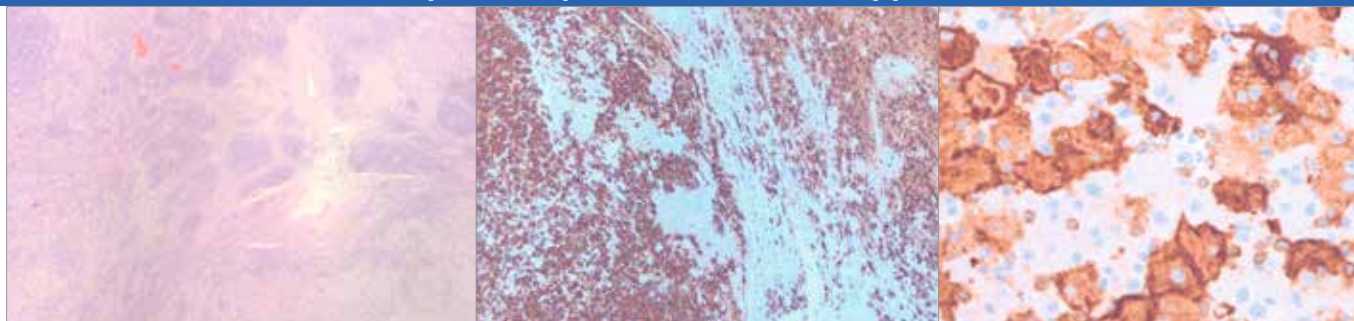


Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии

№ 1 | 22 | 2023

научно-практический журнал



Микроскопическая картина биоптатов лимфатических узлов. Из статьи А.Е. Рудневой и соавт., с. 99

12

Использование цифровой каплевой полимеразной цепной реакции для молекулярной диагностики и мониторинга ответа на терапию при гистиоцитозе из клеток Лангерганса с мутацией *BRAF V600E*

The use of droplet digital polymerase chain reaction for the molecular diagnosis and monitoring of treatment response in patients with Langerhans cell histiocytosis with the *BRAF V600E* mutation

22

Лечение рецидивирующей и рефрактерной анапластической крупноклеточной лимфомы, экспрессирующей киназу анапластической лимфомы: опыт одного Центра

The treatment of relapsed/refractory anaplastic large cell lymphoma expressing the anaplastic lymphoma kinase: a single-center experience

62

Роль блинатумаба в лечении В-клеточных рецидивов острого лимфобластного лейкоза у детей: собственный опыт применения

The role of blinatumomab in the treatment of B-cell relapses of acute lymphoblastic leukemia in children: own experience

165

Диагностическое иммунофенотипирование острых лейкозов. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей

Flow cytometry in acute leukemia diagnostics. Guidelines of Russian-Belarusian multicenter group for pediatric leukemia studies



НАУКА —
ДЕТЯМ



ПРОГРАММА ДИАГНОСТИКИ ИНГИБИТОРНОЙ ФОРМЫ ГЕМОФИЛИИ «INCEPTION»



Программа представляет собой комплекс мер поддержки пациентов с установленным диагнозом гемофилия А / гемофилия В или при подозрении на приобретенную гемофилию А и направлена на обеспечение расширения доступа пациентов к лабораторной диагностике ингибиторной формы гемофилии, а также на повышение качества жизни таких пациентов и членов их семей. Программа включает два направления: направление лабораторной диагностики и направление транспортной поддержки.



В РАМКАХ ПРОГРАММЫ ПРОВОДЯТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ:



При установленном диагнозе гемофилия А или при подозрении на приобретенную ингибиторную гемофилию А:

- Определение фактора VIII
- Определение ингибитора фактора VIII
- Анализ АЧТВ*



При установленном диагнозе гемофилия В:

- Определение фактора IX
- Определение ингибитора фактора IX
- Анализ АЧТВ*

*АЧТВ-активированное частичное тромбопластиновое время



ДЛЯ УЧАСТИЯ В ПРОГРАММЕ ВРАЧУ НЕОБХОДИМО:

1. Связаться с Координатором Программы по номеру горячей линии **8 (800) 100-28-73** по будням с 04:00 до 18:00 (по московскому времени)
2. Зарегистрироваться в Программе и получить сопроводительные документы по электронной почте
3. Проинформировать Пациента о Программе, получить подписанную форму Согласия на обработку персональных данных пациента. Заполнить необходимые документы, полученные от Координатора
4. Направить Координатору на электронную почту **gemo@aston-health.com** отсканированную форму Согласия на обработку персональных данных пациента
5. Сообщить Координатору тип биоматериала; согласовать дату забора образцов и дату и время приезда курьера
6. В случае необходимости транспортировки Пациента сообщить Координатору для организации данного сервиса
7. Осуществить забор образцов биоматериала и подготовить их для передачи курьеру, или направить пациента в медицинский офис сети «Инвитро», оформив заявку на горячей линии
8. Передать курьеру заполненные документы вместе с биоматериалом для транспортировки
9. Результат анализа будет направлен врачу по электронной почте после выполнения исследования

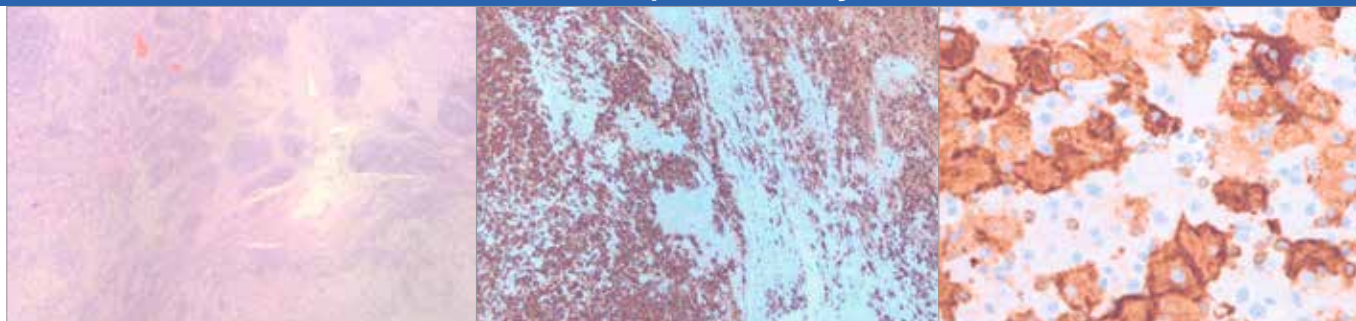


Отбор пациентов для участия в Программе проводит лечащий врач! Подробнее о критериях включения пациентов в Программу и сроках выполнения исследований можно узнать по телефону горячей линии 8-800-100-28-73 по будням с 04:00 до 18:00 по Московскому времени.

Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology

№ 1 | 22 | 2023

scientific and practical journal



Microscopic appearance of the lymph node biopsy specimens.
From the article by A.E. Rudneva et al., p. 99

12

The use of droplet digital polymerase chain reaction for the molecular diagnosis and monitoring of treatment response in patients with Langerhans cell histiocytosis with the *BRAF* V600E mutation

22

The treatment of relapsed/refractory anaplastic large cell lymphoma expressing the anaplastic lymphoma kinase: a single-center experience

62

The role of blinatumomab in the treatment of B-cell relapses of acute lymphoblastic leukemia in children: own experience

165

Flow cytometry in acute leukemia diagnostics. Guidelines of Russian-Belarusian multicenter group for pediatric leukemia studies



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.

Manuscript Submissions

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

Advertising

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

Commercial Reprints

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

Disclaimer

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

Indexing

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

Copyright

Copyright © 2023 by «Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» («D. Rogachev NMRCPOI»). 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*:
1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia

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

Рецензируемый журнал с открытым доступом, издается 4 раза в год фондом 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.

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: info@vind-fnkc.ru

Репринт

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

Дисклеймер

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

Индексирование

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

Авторское право

© 2023 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, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

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

Founders

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

Publisher

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

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 (Roskomnadzor). Registration number is ПИ № ФС77–69056 on 29.03.2017. The journal was founded in 2002. It is published in Russian and English.

Printing office

LLC «PRINT-M».
Address: 17 Podsozenskiy Lane, Bldg. 1, Room 18, Moscow 101000

Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023
Vol. 22. No. 1. Date of publication 27.02.2023
The circulation is 3500 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».

Издатель

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

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 (Роскомнадзор). Регистрационный номер ПИ № ФС77–69056 от 29.03.2017. Журнал основан в 2002 году. Языки издания: русский, английский.

Типография

ООО «ПРИНТ-М».
Адрес: 101000, Москва, Подсо́сенский пер., 17, стр. 1, офис 18

Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023.
Том 22. №1. Дата выхода 27.02.2023
Тираж 3500 экз. Цена свободная.

ВОПРОСЫ ГЕМАТОЛОГИИ/ОНКОЛОГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ В ПЕДИАТРИИ

Научно-практический журнал

№ 1 | том 22 | 2023



Главный редактор

Новичкова Галина Анатольевна
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Заместители главного редактора

Масчан Алексей Александрович
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, Москва, Россия

Румянцев Александр Григорьевич
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Москва, Россия

Ответственный секретарь

Сметанина Наталия Сергеевна
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Члены редколлегии

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

Балашов Дмитрий Николаевич
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Белогурова Маргарита Борисовна
доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия

Варфоломеева Светлана Рафаэлевна
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Володин Николай Николаевич
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Москва,
Россия

Демихов Валерий Григорьевич
доктор медицинских наук, профессор, Рязань, Россия

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

Кулагин Александр Дмитриевич
доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия

Масчан Михаил Александрович
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Минков Милен
доктор медицинских наук, профессор, Вена, Австрия

Пантелеев Михаил Александрович
доктор физико-математических наук, Москва, Россия

Паровичникова Елена Николаевна
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Птушкин Вадим Вадимович
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Решетов Игорь Владимирович
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Москва,
Россия

Румянцев Сергей Александрович
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Москва, Россия

Трахтман Павел Евгеньевич
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Цаур Григорий Анатольевич
доктор медицинских наук, Екатеринбург, Россия

Щербина Анна Юрьевна
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Редакционный совет

Алексеева Е.И.
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Москва, Россия

Атауллаханов Ф.И.
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Москва, Россия

Афанасьев Б.В.
доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия

Вельте К.
профессор, Тюбинген, Германия

Виллих Н.
профессор, Мюнстер, Германия

Грачев Н.С.
доктор медицинских наук, Москва, Россия

Карачунский А.И.
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Крыжановский О.И.
кандидат медицинских наук, Сан-Франциско, США

Липтон Дж.
профессор, Нью-Йорк, США

Мякова Н.В.
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Накагавара А.
профессор, Чикаго, Япония

Окс Г.
профессор, Сизтл, США

Родригес-Галиндо К.
профессор, Мемфис, США

Самочатова Е.В.
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Скокова Ю.В.
доктор медицинских наук, Тюбинген, Германия

Тер-Ованесов М.Д.
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Фечина Л.Г.
кандидат медицинских наук, Екатеринбург, Россия

Чернов В.М.
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Хамин И.Г.
кандидат медицинских наук, Москва, Россия

Хармс Д.
профессор, Киль, Германия

Хенце Г.
профессор, Берлин, Германия

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



Editor-in-Chief

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

Deputy Editors-in-Chief

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

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

Executive Secretary

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

Members of the Editorial Board

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Mylen Minkov
MD, DSc, Professor, Vienna, Austria

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

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

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

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

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

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

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

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

Advisory Editors

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

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

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

Welte K.
Professor, Tübingen, Germany

Willich N.
Professor, Münster, Germany

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

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

Kryzhanovsky O.I.
MD, San Francisco, USA

Lipton J.
Professor, New York, USA

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

Nakagawara A.
Professor, Chiba, Japan

Ochs H.
Professor, Seattle, USA

Rodriguez-Galindo C.
Professor, Memphis, USA

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

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

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

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

Khamin I.G.
MD, Moscow, Russia

Harms D.
Professor, Kiel, Germany

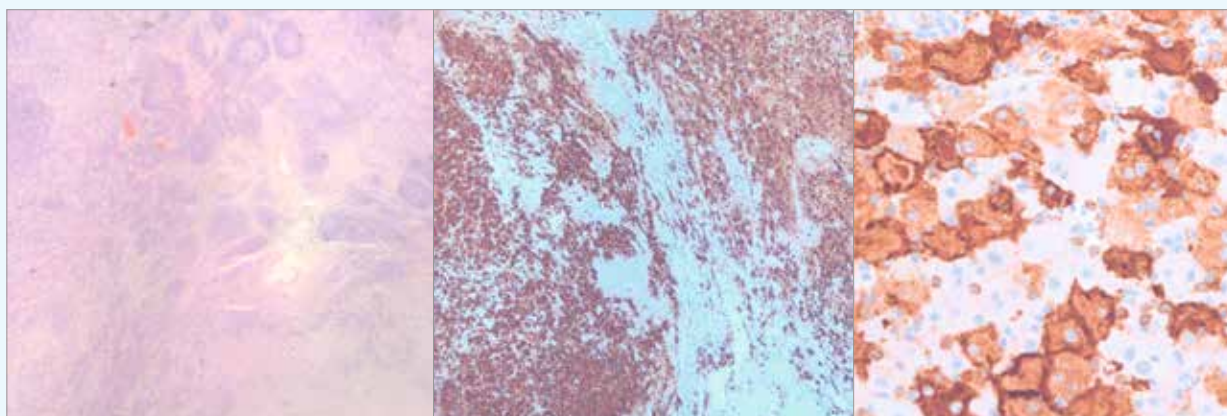
Henze G.
Professor, Berlin, Germany

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

Содержание

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 2023, 22 (1)

Оформление обложки:



Микроскопическая картина биоптатов лимфатических узлов.
Из статьи А.Е. Рудневой и соавт., с. 99

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Использование цифровой капельной полимеразной цепной реакции для молекулярной диагностики и мониторинга ответа на терапию при гистиоцитозе из клеток Лангерганса с мутацией *BRAF V600E*** 12
Д.С. Осипова, Е.В. Райкина, Э.И. Людовских, Д.А. Евсеев, И.И. Калинина, Д.Д. Байдильдина, А.М. Попов, А.А. Семченкова, Е.А. Бурцев, Г.О. Бронин, А.А. Масчан, М.А. Масчан

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Лечение рецидивирующей и рефрактерной анапластической крупноклеточной лимфомы, экспрессирующей киназу анапластической лимфомы: опыт одного Центра** 22
А.Н. Галимов, Е.Е. Лепик, А.В. Козлов, А.Г. Геворгян, И.В. Казанцев, Т.В. Юхта, В.В. Байков, А.Н. Швецов, И.Ю. Николаев, П.С. Толкунова, Н.Б. Михайлова, К.В. Лепик, Ю.А. Пунанов, А.Д. Кулагин, Л.С. Зубаровская
- Определение минимальной диссеминированной болезни в костном мозге методом секвенирования нового поколения у детей с лимфомой Беркитта** 32
Е.В. Волчков, Ю.Г. Аbugова, И.З. Мамедов, Д.С. Абрамов, М.А. Сенченко, Л.Х. Андержанова, А.Ю. Комков, В.В. Фоминых, Ю.В. Ольшанская, Н.В. Мякова, Г.А. Новичкова
- The prognostic significance of cytokine receptor-like factor 2 expression and *JAK2* mutation in pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia: A prospective cohort study** 40
M. Abd El Monem, R. El Ashry, M.R. Bassiouny, S. Aref, S. Abd El Mabood

- Опыт применения инотузумаба озогамидина у детей с рецидивами и рефрактерным течением В-линейного острого лимфобластного лейкоза** 46
Д.А. Евстратов, А.Д. Шутова, Ю.Ю. Дьяконова, С.А. Радыгина, Ю.Г. Абугова, Л.Х. Андержанова, Л.А. Вавилова, Д.В. Литвинов, Г.А. Новичкова, А.М. Попов, В.В. Фоминых, Л.А. Хачатрян, Л.Н. Шелихова, Н.В. Мякова
- Терапия злокачественных лимфопролиферативных заболеваний у пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями с дефектами репарации ДНК** 53
Л.Х. Андержанова, Ю.А. Родина, А.А. Мухина, Ю.Г. Абугова, Д.С. Абрамов, М.Ю. Алексенко, Л.А. Вавилова, Ю.Ю. Дьяконова, Д.А. Евстратов, Е.В. Райкина, В.В. Фоминых, А.Ю. Щербина, Е.В. Дерипапа, Н.В. Мякова
- Роль блинатумаба в лечении В-клеточных рецидивов острого лимфобластного лейкоза у детей: собственный опыт применения** 62
Л.А. Вавилова, Ю.Ю. Дьяконова, О.И. Быданов, Н.В. Мякова, Ю.Г. Абугова, Л.Х. Андержанова, Д.А. Евстратов, Е.Е. Курникова, А.М. Попов, Ю.В. Ольшанская, М.А. Масчан, Л.Н. Шелихова, Д.В. Литвинов, А.В. Попа, А.И. Карачунский
- Оценка клеточности костного мозга методом магнитно-резонансной томографии при апластической анемии у детей** 73
Н.А. Кривенцова, Г.В. Терещенко
- Выявляемость редких коагулопатий у детей в Российской Федерации** 78
П.А. Жарков, Д.Б. Флоринский, О.В. Алейникова, Г.А. Новичкова
- Assessment of bone mineral density and bone turnover markers in patients with juvenile idiopathic arthritis** 84
S.G. Soliman, D.A. Nofal, A.A. Labeeb, R.S. El Zaiat, D.S. Fotoh
- Оценка эффективности и безопасности метода персонифицированной реабилитации второго этапа с использованием современных методов и технологий у детей с первичными иммунодефицитами** 90
Э.К. Мгдсян, Ю.А. Родина, А.Б. Абросимов, Е.В. Жуковская, А.Ф. Карелин, А.Ю. Щербина, Г.А. Новичкова

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

- Болезнь Розаи–Дорфмана (синусовый гистиоцитоз с массивной лимфоаденопатией). Собственное наблюдение и обзор литературы** 99
А.Е. Руднева, Д.С. Абрамов, А.С. Шарлай, Ю.Н. Ликарь, И.Н. Ворожцов, Н.В. Мякова
- Редкая причина экссудативной энтеропатии у ребенка раннего возраста – гистиоцитоз из клеток Лангерганса** 110
Г.Б. Мовсисян, А.Д. Комарова, К.А. Куликов, И.И. Калинина, М.М. Лохматов, В.И. Олдаковский, Р.Ф. Тепаев, Е.А. Рославцева, А.С. Потапов, Н.Е. Щиголева, А.И. Материкин, К.В. Савостьянов

- Резистентность к терапии BRAF-ингибиторами у пациента с *BRAF* V600E-позитивным гистиоцитозом из клеток Лангерганса** 122
Э.И. Людовских, Д.А. Евсеев, Д.С. Осипова, Е.В. Райкина, И.И. Калинина, Д.Д. Байдильдина, А.А. Масчан, М.А. Масчан
- Лейкоз из тучных клеток: демонстрация клинического случая лейкоза из тучных клеток у ребенка и обзор литературы** 126
Э.Г. Бойченко
- X-сцепленная агаммаглобулинемия: обзор литературы и клинический случай** 139
Э.К. Мгдсян, Д.В. Юхачева, Е.А. Малахова, Д.Е. Першин, А.М. Киева, Е.В. Райкина, Ю.А. Родина, А.Ю. Щербина
- Сердечная недостаточность как проявление острого лимфобластного лейкоза** 147
Л.Х. Андержанова, Н.А. Рыбалко, М.А. Шатский, Е.А. Тихомирова, Н.В. Мякова
- Вторичный синдром Фишера–Эванса у ребенка с синдромом активированной PI(3)kd и развитием лимфомы** 152
Ж.А. Кузьминова, В.В. Фоминых, Н.Н. Коцкая, К.В. Митраков, А.А. Моисеева, О.А. Швец, А.М. Лившиц, М.А. Курникова
- Прогрессивная трансформация герминативных центров или нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием? Вопросы дифференциальной диагностики на примере клинического случая** 156
М.А. Сенченко, Д.С. Абрамов, Н.В. Мякова, Д.М. Коновалов

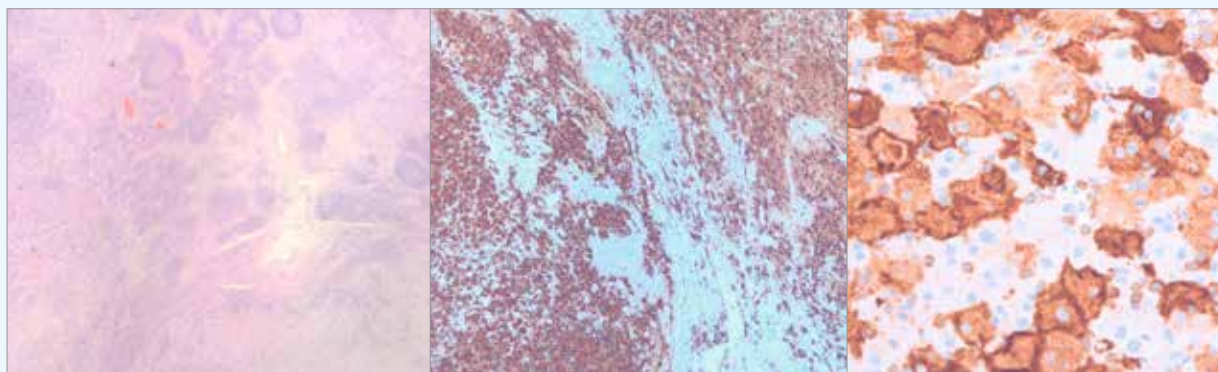
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- Диагностическое иммунофенотипирование острых лейкозов. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей** 165
А.М. Попов, Т.Ю. Вержбицкая, Л.В. Мовчан, И.А. Дёмина, Е.В. Михайлова, А.А. Семченкова, Ж.В. Пермикин, Т.В. Шман, А.И. Карачунский, Г.А. Новичкова

Content

© 2023 «D. Rogachev NMRCPhOI», 2023, 22 (1)

Cover design:



Microscopic appearance of the lymph node biopsy specimens.

From the article by A.E. Rudneva et al., p. 99

PROSPECTIVE RESEARCH

The use of droplet digital polymerase chain reaction for the molecular diagnosis and monitoring of treatment response in patients with Langerhans cell histiocytosis with the *BRAF* V600E mutation

12

D.S. Osipova, E.V. Raykina, E.I. Lyudovskikh, D.A. Evseev, I.I. Kalinina, D.D. Baydildina, A.M. Popov, A.A. Semchenkova, E.A. Burtsev, G.O. Bronin, A.A. Maschan, M.A. Maschan

ORIGINAL ARTICLE

The treatment of relapsed/refractory anaplastic large cell lymphoma expressing the anaplastic lymphoma kinase: a single-center experience

22

A.N. Galimov, E.E. Lepik, A.V. Kozlov, A.G. Gevorgyan, I.V. Kazantsev, T.V. Yukhta, V.V. Baykov, A.N. Shvetsov, I.Yu. Nikolayev, P.S. Tolkunova, N.B. Mikhaylova, K.V. Lepik, Yu.A. Punanov, A.D. Kulagin, L.S. Zubarovskaya

The evaluation of minimal disseminated disease in the bone marrow of children with Burkitt lymphoma using next generation sequencing

32

E.V. Volchkov, Yu.G. Abugova, I.Z. Mamedov, D.S. Abramov, M.A. Senchenko, L.Kh. Anderzhanova, A.Yu. Komkov, V.V. Fominykh, Yu.V. Olshanskaya, N.V. Myakova, G.A. Novichkova

The prognostic significance of cytokine receptor-like factor 2 expression and *JAK2* mutation in pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia: A prospective cohort study

40

M. Abd El Monem, R. El Ashry, M.R. Bassiouny, S. Aref, S. Abd El Mabood

The use of inotuzumab ozogamicin in children with relapsed/refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia

46

D.A. Evstratov, A.D. Shutova, Yu.Yu. Dyakonova, S.A. Radygina, Yu.G. Abugova, L.Kh. Anderzhanova, L.A. Vavilova, D.V. Litvinov, G.A. Novichkova, A.M. Popov, V.V. Fominykh, L.A. Khachatryan, L.N. Shelikhova, N.V. Myakova

Treatment of lymphoid malignancies in patients with primary immunodeficiencies associated with DNA repair defects

53

L.Kh. Anderzhanova, Yu.A. Rodina, A.A. Mukhina, Yu.G. Abugova, D.S. Abramov, M.Yu. Aleksenko, L.A. Vavilova, Yu.Yu. Dyakonova, D.A. Evstratov, E.V. Raykina, V.V. Fominykh, A.Y. Shcherbina, E.V. Deripapa, N.V. Myakova

The role of blinatumomab in the treatment of B-cell relapses of acute lymphoblastic leukemia in children: own experience

62

L.A. Vavilova, Yu.Yu. Dyakonova, O.I. Bydanov, N.V. Myakova, Yu.G. Abugova, L.Kh. Anderzhanova, D.A. Evstratov, E.E. Kurnikova, A.M. Popov, Yu.V. Olshanskaya, M.A. Maschan, L.N. Shelikhova, D.V. Litvinov, A.V. Popa, A.I. Karachunskiy

Bone marrow cellularity assessment using magnetic resonance imaging in children with aplastic anemia N.A. Kriventsova, G.V. Tereshchenko	73
The prevalence of rare bleeding disorders among children in the Russian Federation P.A. Zharkov, D.B. Florinskiy, O.V. Aleynikova, G.A. Novichkova	78
Assessment of bone mineral density and bone turnover markers in patients with juvenile idiopathic arthritis S.G. Soliman, D.A. Nofal, A.A. Labeeb, R.S. El Zaiat, D.S. Fotoh	84
The assessment of the efficacy and safety of the personalized rehabilitation of the second stage using modern methods and technologies in children with primary immunodeficiencies E.K. Mgdsyan, Yu.A. Rodina, A.B. Abrosimov, E.V. Zhukovskaya, A.F. Karelin, A.Y. Shcherbina, G.A. Novichkova	90

CLINICAL OBSERVATION

Rosai–Dorfman disease (sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy): personal observations and literature review A.E. Rudneva, D.S. Abramov, A.S. Sharlay, Yu.N. Likar, I.N. Vorozhtsov, N.V. Myakova	99
Langerhans cell histiocytosis: a rare cause of exudative enteropathy in a young child G.B. Movsisyan, A.D. Komarova, K.A. Kulikov, I.I. Kalinina, M.M. Lokhmatov, V.I. Oldakovskiy, R.F. Tepaev, E.A. Roslavitseva, A.S. Potapov, N.E. Shchigoleva, A.I. Materikin, K.V. Savostyanov	110
Resistance to BRAF inhibitors in a patient with <i>BRAF</i> V600E-positive Langerhans cell histiocytosis E.I. Lyudovskikh, D.A. Evseev, D.S. Osipova, E.V. Raykina, I.I. Kalinina, D.D. Baidildina, A.A. Maschan, M.A. Maschan	122
A case report of mast cell leukemia in a child and literature review E.G. Boychenko	126
X-linked agammaglobulinemia: a review of literature and a case report E.K. Mgdsyan, D.V. Yukhachev, E.A. Malakhova, D.E. Pershin, A.M. Kieva, E.V. Raikina, Yu.A. Rodina, A.Y. Shcherbina	139
Heart failure as a manifestation of acute lymphoblastic leukemia L.Kh. Anderzhanova, N.A. Rybalko, M.A. Shatsky, E.A. Tikhomirova, N.V. Myakova	147
Secondary Fisher–Evans syndrome in a child with activated PI(3)kd syndrome and lymphoma Zh.A. Kuzminova, V.V. Fominykh, N.N. Kotskaya, K.V. Mitrakov, A.A. Moiseeva, O.A. Shvets, A.M. Livshits, M.A. Kurnikova	152
Progressive transformation of germinal centers or nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma? Issues of differential diagnosis: a clinical case M.A. Senchenko, D.S. Abramov, N.V. Myakova, D.M. Konovalov	156

DIAGNOSTIC GUIDELINES

Flow cytometry in acute leukemia diagnostics. Guidelines of Russian-Belarusian multicenter group for pediatric leukemia studies A.M. Popov, T.Yu. Verzhbitskaya, L.V. Movchan, I.A. Demina, E.V. Mikhailova, A.A. Semchenkova, Zh.V. Permikin, T.V. Shman, A.I. Karachunskiy, G.A. Novichkova	165
---	-----

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 22.10.2022
Принята к печати 10.11.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-12-20

Использование цифровой капельной полимеразной цепной реакции для молекулярной диагностики и мониторинга ответа на терапию при гистиоцитозе из клеток Лангерганса с мутацией *BRAF V600E*

Д.С. Осипова¹, Е.В. Райкина¹, Э.И. Людовских¹, Д.А. Евсеев¹, И.И. Калинина¹,
Д.Д. Байдильдина¹, А.М. Попов¹, А.А. Семченкова¹, Е.А. Бурцев¹, Г.О. Бронин²,
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

Контактная информация:

Осипова Дарья Сергеевна,
лаборант-исследователь лаборатории
молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: darya.osipova@fccho-moscow.ru

В данной статье показаны возможности высокочувствительного метода цифровой капельной полимеразной цепной реакции в диагностике и мониторинге аллельной нагрузки мутации *BRAF V600E* в свободно циркулирующей ДНК, а также в популяции миелоидных предшественников костного мозга в группе пациентов с гистиоцитозом из клеток Лангерганса. Применение данной методики поможет определить подходы к оценке минимальной остаточной болезни, а также улучшить понимание распространенности процесса и патогенеза гистиоцитоза из клеток Лангерганса. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, молекулярная диагностика, мутация *BRAF V600E*

Осипова Д.С. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 12–20.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-12-20

© 2023 by «D. Rogachev NMCRPHOI»

Received 22.10.2022
Accepted 10.11.2022

The use of droplet digital polymerase chain reaction for the molecular diagnosis and monitoring of treatment response in patients with Langerhans cell histiocytosis with the *BRAF V600E* mutation

D.S. Osipova¹, E.V. Raykina¹, E.I. Lyudovskikh¹, D.A. Evseev¹, I.I. Kalinina¹, D.D. Baydildina¹, A.M. Popov¹,
A.A. Semchenkova¹, E.A. Burtsev¹, G.O. Bronin², A.A. Maschan¹, M.A. Maschan¹

¹The Dmitry 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

Correspondence:

Daria S. Osipova,
a research technician at the Laboratory
of Molecular Biology 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: darya.osipova@fccho-moscow.ru

This article discusses the potential of droplet digital polymerase chain reaction (PCR) for the diagnostic detection and monitoring of the allelic load of the *BRAF V600E* mutation in circulating cell-free DNA and myeloid progenitor cell population in the bone marrow of patients with Langerhans cell histiocytosis (LCH). Droplet digital PCR may serve as a useful tool for the monitoring of minimal residual disease and improve our understanding of the pathogenesis of Langerhans cells histiocytosis. 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: polymerase chain reaction, Langerhans cell histiocytosis, molecular diagnosis, *BRAF V600E* mutation

Osipova D.S., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 12–20.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-12-20

Гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ) – заболевание, возникающее вследствие аномальной пролиферации и аккумуляции в органах и

тканях клеток, фенотипически похожих на клетки Лангерганса. Это приводит к локальному повреждению и нарушению функции пораженных органов.

Клинические проявления ГКЛ варьируют от легких доброкачественных моносистемных до распространенных, быстро прогрессирующих форм, включающих поражение органов риска, к которым относят печень, селезенку и костный мозг [1]. Основными механизмами развития заболевания являются клональная пролиферация патологических клеток Лангерганса и последующая дисрегуляция взаимодействия клеток иммунной системы в очагах поражения [2].

Во многих исследованиях было показано, что у 50–60% пациентов с ГКЛ обнаруживается точечная соматическая мутация *BRAF* V600E, приводящая к митотической активации и ингибированию апоптоза [3–5]. Ранее считалось, что распространенность поражения при гистиоцитозе зависит от уровня дифференцировки клеток, на котором происходит мутация и активация RAS/RAF–MEK–ERK-сигнального пути. Так, у группы пациентов с наличием поражения органов риска мутация была выявлена в стволовых CD34⁺-клетках, а также в циркулирующих CD11c⁺- и CD14⁺-клетках, в то время как у группы пациентов с моносистемным поражением мутация в клетках-предшественниках гистиоцитов обнаружена не была [6]. Однако, согласно 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 различным соотношением клеточных популяций, несущих мутацию, в костном мозге [7].

Стандартным методом детекции мутации *BRAF* V600E в диагностических образцах является секвенирование по Сэнгеру. Ключевой проблемой диагностической детекции *BRAF* V600E является высокая примесь нормальных клеток иммунной системы в образце, что диктует необходимость использования высокочувствительных методов обнаружения мутации. В качестве альтернативы рассматривается метод цифровой капельной полимеразной цепной реакции (цкПЦР). Помимо диагностики важным нерешенным аспектом прикладной молекулярной биологии ГКЛ является разработка метода определения минимальной остаточной болезни (МОБ). В качестве перспективных методов рассматривают определение аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E (отношение количества мутантного аллеля к аллелю «дикого» типа) в свободно циркулирующей ДНК (сцДНК), а также в популяции миелоидных предшественников костного мозга у пациентов с ГКЛ. Чувствительная методика определения МОБ может помочь в определении длительности терапии таргетными препаратами и в верификации ответа на лечение у пациентов с

сомнительными результатами инструментального исследования.

В настоящей работе суммированы результаты применения методики цкПЦР для детекции мутации *BRAF* V600E на этапе диагностики в сцДНК и в селектированных ранних предшественниках в костном мозге. Продемонстрированы также возможности применения цкПЦР для мониторинга доли мутантного аллеля на этапах терапии в качестве потенциального биомаркера МОБ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика пациентов

За период с 2017 по 2022 г. в исследование вошли 117 пациентов, среди которых было 60 мальчиков и 57 девочек. Медиана возраста пациентов составила 3 года на момент инициального исследования. Из них у 20 пациентов была установлена моносистемная форма заболевания, у 45 – мультисистемная форма без поражения органов риска, у 52 – мультисистемная форма с поражением органов риска. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Для лечения пациентов использовали следующие протоколы: стандартный протокол LCH-IV [8] с или без последующей монотерапии вемурафенибом (*BRAF*-ингибитором) ($n = 89$) и исследовательский апробационный протокол NCT03585686 «Открытое исследование эффективности и безопасности применения вемурафениба в сочетании с комбинированной терапией цитарабином/2-хлордезоксиаденозином у пациентов с ГКЛ с наличием мутации V600E в гене *BRAF*» ($n = 28$), стратегия терапии которого предполагает интеграцию использования вемурафениба и низких доз цитозара и кладрибина (рисунк 1) [9].

Такая комбинация химиотерапии и *BRAF*-ингибитора (вемурафениба) направлена на элиминацию патологического клона, так как было показано, что монотерапия ингибиторами у большинства пациентов способна только сдерживать клон, а при отмене препарата происходит реактивация заболевания [10]. Протокол NCT03585686 предусматривает контрольные точки для возможной оценки МОБ: 3 точки пункции костного мозга для оценки аллельной нагрузки мутации в миелоидных предшественниках и 6 контрольных точек забора крови для оценки аллельной нагрузки мутации в сцДНК плазмы крови.

Методы

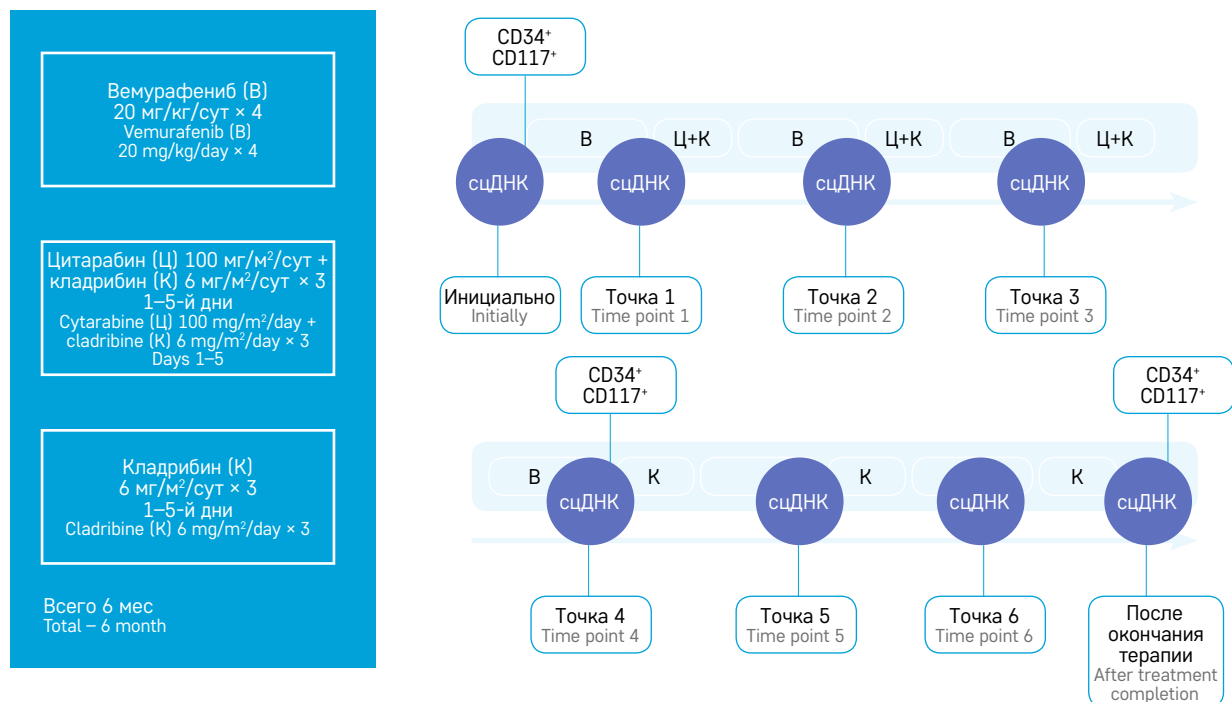
На этапе первичной диагностики стандартными методами были обследованы 117 пациентов. Из них у 58 в качестве диагностического материала был иссле-

Рисунок 1

Схема апробационного протокола NCT03585686 [9]

Figure 1

A scheme of the NCT03585686 clinical study protocol [9]. сцДНК – circulating cell-free DNA



дован биоптат очагов поражения (методом мутационно-специфической ПЦР в режиме реального времени с последующим секвенированием по Сэнгеру), у 37 – образцы костного мозга и селектированные CD34⁺-клетки (мутацию определяли методом прямого секвенирования по Сэнгеру). У 22 пациентов в качестве диагностического материала использовали и биоптат, и костный мозг с выделенной CD34⁺-популяцией.

BRAF-позитивными считали пациентов, у которых на этапе первичной диагностики мутацию выявляли в любом биоматериале.

Методом цкПЦР сцДНК плазмы крови на момент диагностики исследовали также у 117 пациентов, популяцию миелоидных предшественников – у 62.

Для выделения миелоидных предшественников проводили пункцию костного мозга. Клетки выделяли при помощи клеточного сортера BD FACSAria III (BD Biosciences, США), для окрашивания использовали следующую панель флуоресцентно-меченых моноклональных антител: CD34 PE-Cy7 (BD Biosciences), CD117 PC5.5 (Beckman Coulter, США), HLA-DR Pacific Blue (Beckman Coulter), CD45 Krome Orange (Beckman Coulter). Миелоидные предшественники выделяли на основании их иммунофенотипа (CD45^{dim}CD34⁺CD117⁺HLA-DR⁺⁺) (рисунок 2).

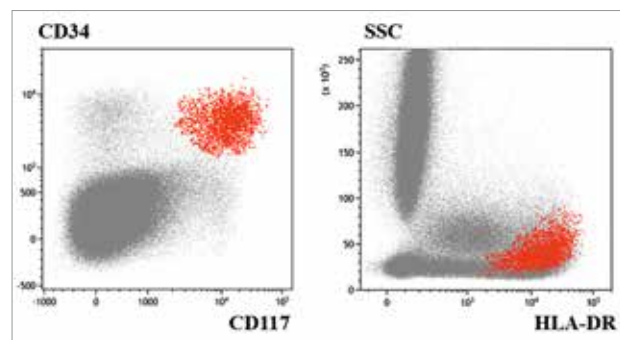
Выделение ДНК из клеточных популяций костного мозга осуществляли сорбентным методом с помощью коммерческого набора АмплиПрайм ДНК-сорб-В

Рисунок 2

Имунофенотип, выбранный для сортировки миелоидных предшественников. Миелоидные предшественники обозначены красным цветом; остальные ядросодержащие клетки – серым. SSC – параметр бокового светорассеяния

Figure 2

An immunophenotype chosen for myeloid progenitors cell sorting (shown in red). Other nucleated cells are shown in grey. SSC – side scatter parameter



(ИЛС, Россия). Выделение ДНК из образцов биоптата (парафиновых блоков) проводили с помощью набора RNA/DNA Purification Plus Kit (Norgen Biotek Corp, Канада). Выделение сцДНК проводили из 4 мл плазмы крови, набранной в пробирки Плазма Протект (Евроген, Россия), содержащие специальный консервант, который препятствует лизису клеток крови и обеспечивает сохранность внеклеточной ДНК в течение 10 дней. сцДНК выделяли с помощью набора QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (QIAGEN, Нидер-

ланды) согласно инструкции производителя с использованием колонок QIAamp Mini (QIAGEN, Нидерланды) на вакуумном коллекторе QIAvac 24 Plus. Выделение ДНК из образцов костного мозга проводили с помощью станции выделения нуклеиновых кислот QIAasymphony и набора QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (QIAGEN, Нидерланды).

Для оценки и мониторинга аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E использовали цкПЦР, так как данный метод обладает более высокой чувствительностью, которая зависит от количества ДНК, взятого в реакцию, и может достигать 0,002% [11]. Также с помощью цкПЦР можно определить абсолютное количество копий ДНК с мутацией и без, что позволяет точно рассчитать аллельную нагрузку мутации [12]. Мониторинг аллельной нагрузки мутации в сцДНК плазмы крови для возможной оценки МОБ был выполнен в контрольных точках у 21 пациента согласно протоколу NCT03585686. Также для этих пациентов был проведен мониторинг аллельной нагрузки мутации в популяции миелоидных предшественников. Для постановки цкПЦР использовали систему QX200 ddPCR System (Bio-Rad Technologies, Hercules, CA). Образцы анализировали в дубле. В каждой постановке в качестве положительного контроля использовали ДНК с подтвержденной секвенированием по Сэнгеру мутацией. В качестве отрицательного контроля использовали ДНК без мутации и воду. Для генерации капель использовали прибор QX200 AutoDG, для подсчета капель – QX200 Droplet Reader. Анализ данных проводили с использованием программы QuantaSoft.

Медиана количества сцДНК на реакцию цкПЦР составила 6,2 нг (94 копии/мкл (8,7–1013)). Порог

чувствительности метода определяли для каждого образца индивидуально согласно таблице, представленной производителем и отражающей зависимость чувствительности метода от количества ДНК в реакции [11]. Таким образом, медиана порога чувствительности метода для сцДНК составила 0,16% (0,05–1,70%).

В зависимости от клеточности образца и содержания в нем миелоидных предшественников количество выделенных клеток варьировалось от 7 тыс. до 223 тыс. (медиана 40 тыс.). Медиана количества выделенной ДНК, взятой в реакцию, составила 88,6 нг (1343 копии/мкл (376–5120)). Медиана порога чувствительности была рассчитана для каждого образца индивидуально и составила 0,011% (0,003–0,04%). Все значения, которые были ниже индивидуально рассчитанного порога чувствительности рассматривались как негативные.

Суммарные данные по количеству исследуемых образцов на этапе диагностики и мониторинга аллельной нагрузки мутации представлены в таблице 1.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы GraphPad Prism 8.4.2. Перед выполнением анализа выборки были исследованы на нормальность, симметричность и равенство дисперсий. По результатам проверки отдано предпочтение непараметрическим методам анализа. Для проверки гипотезы о наличии связи между системностью заболевания и наличием мутации использовали точный тест Фишера. При сравнении 3 выборок (уровня аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E в группах пациентов с моносистемным поражением, мультисистемными поражениями с и без вовлечения органов риска) использовали критерий Краскела–

Таблица 1

Количество исследуемых образцов с помощью стандартных методов и цкПЦР на этапе первичной диагностики и при последующем мониторинге аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E в различных видах биоматериала

Table 1

The number of samples processed using standard methods or droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) initially and during further *BRAF* V600E allelic load monitoring in different types of biomaterial

Метод Method	Диагностический этап (всего 117 пациентов) At diagnosis (a total of 117 patients)					Мониторинг в контрольных точках согласно протоколу NCT03585686 (всего 21 пациент) Monitoring at time points determined by the NCT03585686 protocol (a total of 21 patients)	
	Биоптат Biopsy sample	Биоптат + костный мозг, CD34 ⁺ Biopsy sample + bone marrow, CD34 ⁺	сцДНК Circulating cell-free DNA	Костный мозг, CD34 ⁺ Bone marrow, CD34 ⁺	CD34 ⁺ , CD117 ⁺	сцДНК (8 контрольных точек) Circulating cell-free DNA (8 control time points)	CD34 ⁺ CD117 ⁺ (3 контрольные точки) CD34 ⁺ CD117 ⁺ (3 control time points)
Секвенирование по Сэнгеру Sanger sequencing	–	22 образца 22 samples	–	37 образцов 37 samples	–	–	–
Мутационно-специфическая ПЦР + секвенирование по Сэнгеру Mutation specific PCR + Sanger sequencing	58 образцов 58 samples		–	–	–	–	–
цкПЦР ddPCR	–	–	117 образцов 117 samples	–	62 образца 62 samples	168 образцов 168 samples	60 образцов 60 samples

Уоллиса. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Инициальная диагностика мутации *BRAF V600E*

Среди пациентов, которым инициальное исследование на наличие мутации *BRAF V600E* проводили методом мутационно-специфической ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру образцов биоптата, *BRAF*-положительными оказались 32 (55%) из 58. Среди пациентов, инициальное исследование которым проводили методом прямого секвенирования по Сэнгеру образцов костного мозга и популяции *CD34⁺*, *BRAF*-положительными оказались 10 (27%) из 37. Среди пациентов, инициальное исследование которым проводили и в биоптате, и в костном мозге, и в *CD34⁺*-популяции, мутацию выявили у 13 (59%) из 22. Таким образом, общее число *BRAF*-положительных пациентов по результатам инициального исследования стандартными методами выявления мутации составило 55 (47%) из 117. Доля пациентов с ГКЛ, имеющих мутацию *BRAF V600E*, соотносится с данными мировой литературы [3].

Помимо диагностики стандартными методами мутацию *BRAF V600E* на этапах первичной диагностики у данных пациентов определяли в сДНК плазмы крови методом цкПЦР. Результаты представлены на рисунке 3.

Доля мутантных образцов среди пациентов с моносистемным поражением составила 10% (2 из 20), в то время как у пациентов с мультисистемными поражениями доля мутантных образцов оказалась выше: 44% (20 из 45) и 79% (41 из 52) без и с поражением органов риска соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о том, что детекция мутации *BRAF V600E* в сДНК ассоциирована с более тяжелым и распространенным течением заболевания ($p < 0,001$; точный тест Фишера), что соответствует данным литературы [13].

Кроме того, стоит отметить, что по данным инициального исследования на наличие *BRAF V600E* среди 117 пациентов мутация методом цкПЦР выявлена у 63 (54%). Данное значение оказалось выше, чем по результатам инициального исследования стандартными методами (47%) ввиду большей чувствительности метода цкПЦР.

Помимо выявления *BRAF V600E* был также проведен расчет аллельной нагрузки мутации в сДНК в разных группах пациентов, чтобы выяснить, будет ли различаться ее уровень в зависимости от распространенности заболевания. Данные представлены на рисунке 4.

Так, в группе пациентов с моносистемным поражением аллельная нагрузка в мутантных образцах

была низкой (медиана – 0,39; диапазон 0,11–0,68), в группе с мультисистемными поражениями без вовлечения органов риска она возрастала (медиана – 1,43; диапазон 0,13–23,88), а в группе пациентов с мультисистемными поражениями и вовлечением органов риска оказалась самой высокой (медиана – 4,91;

Рисунок 3

Количество положительных (*BRAF V600E*) и отрицательных (*BRAF wt*) инициальных образцов сДНК у пациентов с разной распространенностью заболевания

Figure 3

The number of positive (*BRAF V600E*) and negative (*BRAF wt*) cfDNA samples obtained from patients with different disease severity before the therapy initiation

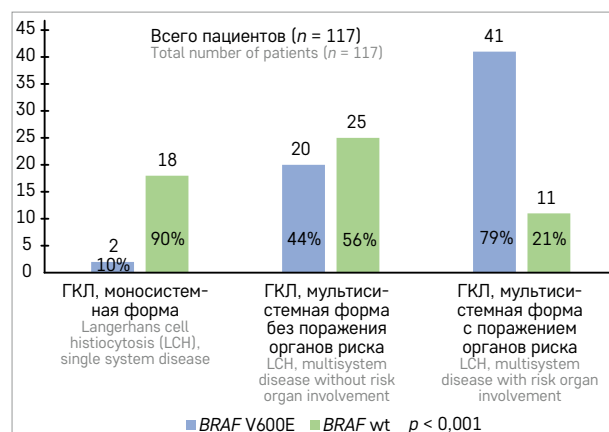
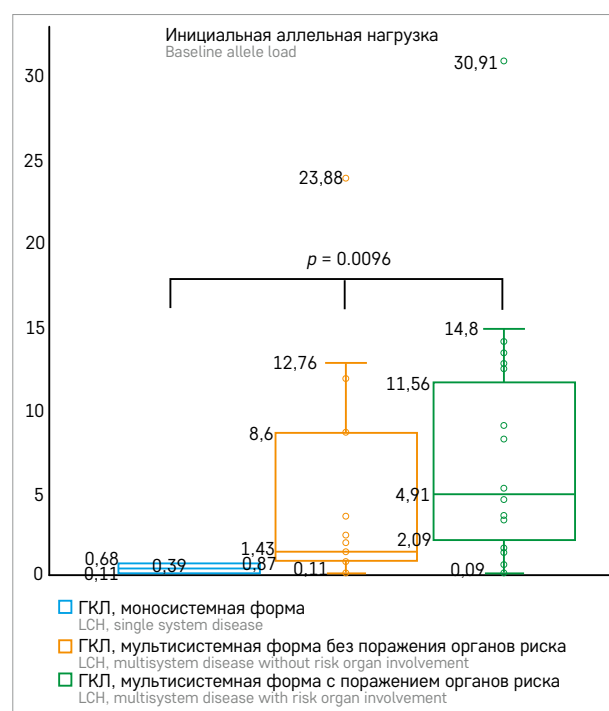


Рисунок 4

Уровень аллельной нагрузки мутации *BRAF V600E* в инициальных (взятых до начала терапии) образцах сДНК плазмы крови у пациентов с различной распространенностью заболевания

Figure 4

The level of cfDNA *BRAF V600E* allelic load measured in patients with different disease severity before the therapy initiation



диапазон 0,09–30,91 ($p = 0,0096$; критерий Краскела–Уоллиса).

Данные различия, вероятно, объясняются тем, что при большей распространенности заболевания общий объем клеточной массы патологических клеток Лангерганса, их пролиферация, диссеминация и клеточная гибель происходят более интенсивно, таким образом увеличивая долю апоптотической мутантной ДНК в плазме крови.

Также помимо анализа сцДНК для лучшего понимания распространенности и патогенеза заболевания у 62 пациентов было проанализировано наличие мутации в популяции миелоидных предшественников костного мозга. Результаты исследования инициальных образцов представлены на *рисунке 5*.

Наибольшее количество образцов с детектируемой мутацией было выявлено в группе с мультисистемными поражениями с вовлечением органов риска – 60% (21 из 35), в группе с мультисистемными поражениями без вовлечения органов риска – 22% (5 из 23), в группе пациентов с моносистемными поражениями мутация в миелоидных предшественниках не была обнаружена (0 из 4).

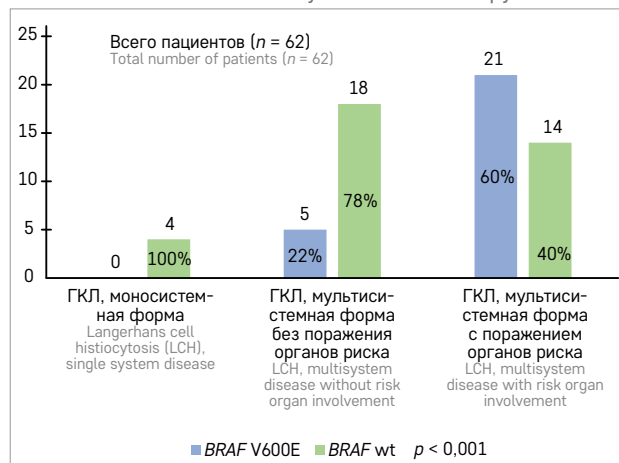
Таким образом, наличие мутации *BRAF V600E* в популяции CD34⁺CD117⁺-клеток костного мозга ассоциировано с более тяжелым и распространенным течением заболевания ($p = 0,002$; точный тест Фишера).

Необходимо отметить, что обнаружение мутации *BRAF V600E* в популяции миелоидных предшественников не всегда соответствовало клинически определяемому поражению костного мозга. Так, среди пациентов с мультисистемным поражением без вовлечения органов риска мутацию в миелоидных

Рисунок 5

Количество положительных (*BRAF V600E*) и отрицательных (*BRAF wt*) образцов популяции миелоидных предшественников у пациентов с разной распространенностью заболевания до начала терапии

Figure 5
The number of positive (*BRAF V600E*) and negative (*BRAF wt*) myeloid progenitors samples obtained from patients with different disease severity before the therapy initiation



предшественниках обнаружили у 5 из 23. Эти данные подтверждают современное представление о патогенезе ГКЛ – независимо от распространенности заболевания активирующая мутация обнаруживается на уровне миелоидных стволовых клеток [7].

Мониторинг аллельной нагрузки мутации *BRAF V600E* в сцДНК и популяции миелоидных предшественников

Образцы плазмы крови для оценки аллельной нагрузки мутации в сцДНК были взяты у пациентов ($n = 21$) на различных этапах терапии и после ее окончания согласно протоколу NCT03585686.

Данные по мониторингу аллельной нагрузки представлены в *таблице 2*.

Мониторинг аллельной нагрузки *BRAF V600E* на этапах терапии и после ее окончания показал, что у большинства пациентов детектируемое количество аллельной нагрузки прогрессивно снижается. У части пациентов аллельная нагрузка становится недетектируемой, в то же время у другой части – персистирует на низком уровне. На *рисунке 6* представлен мониторинг аллельной нагрузки *BRAF V600E* на примере 4 пациентов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что снижение показателя аллельной нагрузки отражает эффективность проводимой терапии. Однако на сегодняшний день данный показатель не может рассматриваться однозначным критерием оценки МОБ, так как минимальный уровень аллельной нагрузки мутации после завершения терапии может поддерживаться за счет резидуальных пато-

Рисунок 6

Мониторинг аллельной нагрузки мутации *BRAF V600E* на примере 4 пациентов (0,05% – нижняя граница индивидуально рассчитанных порогов чувствительности)

Figure 6
cfDNA *BRAF V600E* allelic load monitoring illustrated by 4 cases (0.05% is the lowest individually calculated limit of detection)

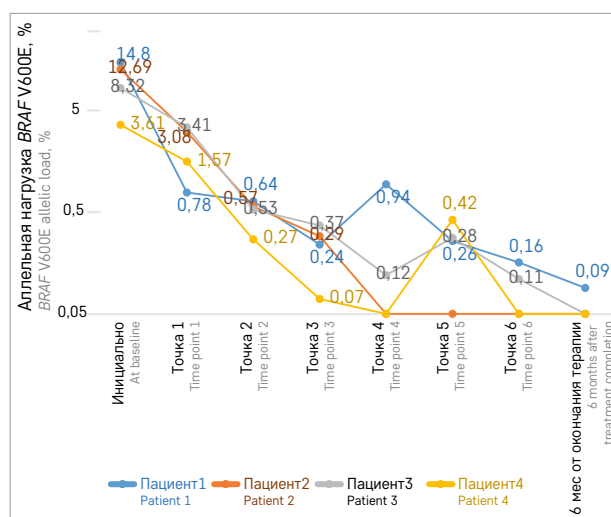


Таблица 2

Мониторинг аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E в сДНК у пациентов ($n = 21$) на различных этапах терапии и после ее окончания

Table 2

BRAF V600E allelic load monitoring in 21 patients during timepoints on protocol therapy and during the follow-up

Пациент Patient	Инициально At baseline	Точка 1 Time point 1	Точка 2 Time point 2	Точка 3 Time point 3	Точка 4 Time point 4	Точка 5 Time point 5	Точка 6 Time point 6	После окончания терапии After treatment completion
№1	14,80	0,78	0,64	0,24	0,94	0,26	0,16	0,09
№2	12,69	3,08	0,57	0,29	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№3	8,32	3,41	0,53	0,37	0,12	0,28	0,11	Н/д <LoD
№4	3,61	1,57	0,27	Н/д <LoD	0,07	Н/д <LoD	Н/д <LoD	0,42
№5	14,08	5,42	2,68	Н/д <LoD	Н/д <LoD	0,40	1,99	0,50
№6	1,41	0,14	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	0,13	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№7	15,88	1,63	1,02	0,42	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№8	5,25	0,96	Н/д <LoD	Н/д <LoD	0,33	0,52	1,08	0,24
№9	5,29	1,30	0,70	0,20	0,10	0,53	0,74	0,86
№10	3,48	0,87	1,14	1,07	0,51	Н/д <LoD	1,55	0,61
№11	3,66	9,56	0,32	0,67	0,20	0,17	0,34	0,54
№12	12,40	5,78	1,12	1,35	1,18	1,49	6,29	2,33
№13	30,91	3,17	0,71	0,13	0,34	0,29	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№14	12,7	Н/д <LoD	Н/д <LoD	0,35	0,39	0,41	1,05	Н/д <LoD
№15	0,14	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№16	8,60	Н/д <LoD	0,13	0,28	0,56	0,08	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№17	1,02	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№18	1,10	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№19	1,43	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№20	1,00	0,26	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№21	0,63	1,51	0,59	0,30	0,13	Н/д <LoD	0,22	Н/д <LoD

Примечание. Н/д – аллельная нагрузка ниже уровня детекции.

Note. <LoD – below level of detection.

логических клеток в тканях, наличие которых необязательно приводит к системному рецидиву заболевания.

Согласно современным представлениям, персистенция миелоидных предшественников с мутацией *BRAF* V600E может быть источником рецидива заболевания. В этой связи в настоящей работе помимо мониторинга изменения аллельной нагрузки мутации в сДНК мониторинг проводили в популяции миелоидных предшественников, которые дают начало патологическому клону. Костномозговую пункцию проводили в 3 точках согласно протоколу.

Всего было проанализировано 60 образцов от 21 пациента. Данные по мониторингу аллельной нагрузки представлены в таблице 3 и на рисунке 7.

Доля детектируемых мутантных миелоидных предшественников резко снижалась в процессе терапии, что говорит о том, что данный показатель

отражает эффективность проводимой терапии. В то же время у некоторых пациентов даже после окончания терапии и полного восстановления гемопоэза наблюдались низкие значения аллельной нагрузки в миелоидных предшественниках. Также стоит отметить, что пациент №10 – единственный, развивший системный рецидив с вовлечением органов риска после окончания протокола, имел самую высокую аллельную нагрузку мутации в последней точке (1,03%), что указывает на потенциальное предсказательное значение данного показателя.

Таким образом, учитывая существенную однонаправленную динамику на фоне эффективной терапии, показатель аллельной нагрузки в миелоидных предшественниках может рассматриваться как потенциальный маркер МОБ. Необходимо расширенное исследование с установлением релевантных порогов отсечения для клинического применения.

Рисунок 7

Мониторинг аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E в популяции миелоидных предшественников в 3 точках согласно апробационному протоколу (0,003% – нижняя граница индивидуально рассчитанных порогов чувствительности)

Figure 7

Myeloid precursor *BRAF* V600E allelic load monitoring at 3 timepoints according to the clinical study protocol (0.003% is the lowest individually calculated limit of detection)

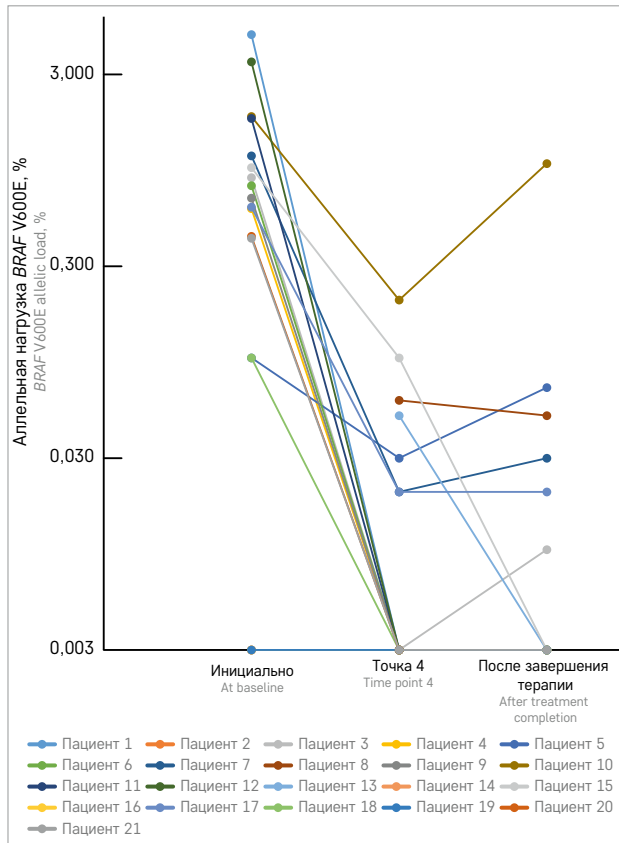


Таблица 3

Мониторинг аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E в популяции миелоидных предшественников в 3 точках

Table 3

Myeloid precursor *BRAF* V600E allelic load monitoring at 3 time points according to the clinical study protocol

Пациент Patient	Инициально At baseline	Точка 4 Time point 4	После окончания терапии After treatment completion
№1	4,840	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№2	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№3	0,870	Н/д <LoD	0,010
№4	0,600	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№5	0,100	0,030	0,070
№6	0,790	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№7	1,130	0,020	0,030
№8		0,060	0,050
№9	0,680	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№10	1,810	0,200	1,030
№11	1,770	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№12	3,490	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№13		0,050	Н/д <LoD
№14	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№15	0,980	0,100	Н/д <LoD
№16	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№17	0,610	0,020	0,020
№18	0,100	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№19	Н/д <LoD	Н/д <LoD	Н/д <LoD
№20	0,430	Н/д <LoD	
№21	0,42	Н/д <LoD	Н/д <LoD

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мутация *BRAF* V600E играет ключевую роль в патогенезе ГЛЛ. В ходе данной работы были показаны возможности использования метода цкПЦР для выявления на этапе диагностики и мониторинга аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E в сДНК, а также в популяции миелоидных предшественников костного мозга. Также было показано, что метод цк ПЦР является наиболее эффективным для оценки аллельной нагрузки *BRAF* V600E, так как обладает более высокой чувствительностью по сравнению с другими методами определения мутации.

Одна из диагностических перспектив связана с использованием в качестве биомаркера сДНК, которая может быть обнаружена в плазме крови человека. Наличие мутации *BRAF* V600E в сДНК ассоциировано с более тяжелым течением заболевания, а

изменения аллельной нагрузки мутации соотносятся с терапевтическим ответом. Преимуществом использования сДНК в качестве биоматериала является то, что взятие крови является малоинвазивной процедурой, которую можно проводить в любой момент времени, обеспечив таким образом динамическое наблюдение за молекулярными изменениями в очагах поражения. Однако для установления более точных критериев оценки МОБ необходимы дальнейший набор материала и анализ изменений аллельной нагрузки мутации в сДНК на фоне терапии и после ее окончания.

В то же время о возможном рецидиве заболевания может свидетельствовать сохранение патологического клона миелоидных предшественников. В связи с этим важно достоверно определять малые значения аллельной нагрузки мутации в данной популяции. Это предпочтительно делать с помощью высокочувствительного метода цкПЦР. Кроме того, мониторинг аллельной нагрузки мутации в попу-

ляции миелоидных предшественников может помочь в принятии решения об отмене или продолжении терапии.

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

Osipova D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9968-9332>
Raykina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>
Lyudovskikh E.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0717-2019>
Evseev D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8610-0624>
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>
Semchenkova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7082-1694>
Burtsev E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3623-6547>
Bronin G.O. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0694-3996>
Maschan A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0016-6698>
Maschan M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

- Haupt R., Minkov M., Astigarraga I., Schäfer E., Nanduri V., Jubran R., et al. Langerhans cell histiocytosis (LCH): guidelines for diagnosis, clinical work-up, and treatment for patients till the age of 18 years. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60 (2): 175–84.
- Harmon C.M., Brown N. Langerhans Cell Histiocytosis A Clinicopathologic Review and Molecular Pathogenetic Update. *Arch Pathol Lab Med* 2015; 139: 1211–4.
- 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.
- Wei R., Wang Z., Li X., Shu Y., Fu B. Frequent *BRAF*V600E mutation has no effect on tumor invasiveness in patients with Langerhans cell histiocytosis. *Biomed Rep* 2013; 1(3): 365–8.
- Bigenwald C., Le Berichel J., Matthias Wilk C., Chakraborty R., Chen S.T., Tabachnikova A., et al. *BRAF*V600E-induced senescence drives Langerhans cell histiocytosis pathophysiology. *Nat Med* 2021; 27 (5): 851.
- Berres M.-L., Phaik Har Lim K., Peters T., Price J., Takizawa H., Salmon H., et al. *BRAF*-V600E expression in precursor versus differentiated dendritic cells defines clinically distinct LCH risk groups. *J Exp Med* 2014; 211 (4) 669–83.
- 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): 2188–99.
- LCH-IV, International Collaborative Treatment Protocol for Children and Adolescents With Langerhans Cell Histiocytosis – Full Text View – ClinicalTrials.gov [Electronic resource]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02205762> (accessed 26.10.2022).
- Проспективное нерандомизированное клиническое испытание фазы II вемурафениба в комбинации с цитарабином и 2-хлордезоксиденозином у детей с гистiocитозом клеток Лангерганса с мутацией *BRAF* V600E [Электронный ресурс]. URL: <https://ichgcp.net/ru/clinical-trials-registry/NCT03585686> (дата обращения 26.10.2022).
- 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.
- Bio-Rad. Rare Mutation Detection Best Practices Guidelines.
- Deprez L., Corbisier P., Kortekaas A.-M., Mazoua S., Beaz Hidalgo R., Trapmann S., et al. Validation of a digital PCR method for quantification of DNA copy number concentrations by using a certified reference material. *Biomol Detect Quantif* 2016; 9: 29–39.
- Héritier S., Hélias-Rodziewicz Z., Lapillonne H., Terrones N., Garrigou S., Normand C., et al. Circulating cell-free *BRAF*V600E as a biomarker in children with Langerhans cell histiocytosis. *Br J Haematol* 2017; 178 (3): 457–67.

Гордимся нашим вкладом в лечение редких иммунологических заболеваний

Первичный и вторичный иммунодефициты (ПИД и ВИД)^{1,2}

- ✓ Препараты иммуноглобулина человека нормального с высокой концентрацией в/в и п/к

Наследственный ангиоотёк (НАО)^{3,4}

- ✓ Препараты ингибитора С1-эстеразы для патогенетической терапии НАО в/в и п/к



Список документов:

1. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Привиджен. Регистрационный номер: ЛП-002452.
2. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Хайцентра®. Регистрационный номер: ЛП-005925.
3. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Беринерт®. Регистрационный номер: ЛП-001607.
4. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Хайгарда®. Регистрационный номер: ЛП-008062.

Материал предназначен для специалистов здравоохранения.

Филиал ООО «Си Эс Эл Беринг Биотерапис ГмБХ»

115035, г. Москва, Космодамианская набережная, д. 52, стр. 5

Эл. почта: inforussia@csbehring.com

Тел.: +7 (495) 788-52-89

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 12.10.2022
Принята к печати 13.01.2023

Лечение рецидивирующей и рефрактерной анапластической крупноклеточной лимфомы, экспрессирующей киназу анапластической лимфомы: опыт одного Центра

А.Н. Галимов, Е.Е. Лепик, А.В. Козлов, А.Г. Геворгян, И.В. Казанцев, Т.В. Юхта, В.В. Байков, А.Н. Швецов, И.Ю. Николаев, П.С. Толкунова, Н.Б. Михайлова, К.В. Лепик, Ю.А. Пунанов, А.Д. Кулагин, Л.С. Зубаровская

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

Контактная информация:

Галимов Александр Наилевич,
врач-педиатр НИИ детской онкологии,
гематологии и трансплантологии
им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО ПСПбГМУ
им. И.П. Павлова Минздрава России
Адрес: 197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, 6/8
E-mail: 94gal94@gmail.com

Анапластическая крупноклеточная лимфома (АККЛ), экспрессирующая киназу анапластической лимфомы (anaplastic lymphoma kinase, ALK) (ALK⁺ АККЛ) – это редкий вид лимфом, которые составляют 10–15% всех неходжкинских лимфом у детей и 2–3% – у молодых взрослых. Рефрактерное и рецидивирующее (Р-Р) течение встречается еще реже (25–40% случаев). Стандартов лечения Р-Р ALK⁺ АККЛ не разработано. В дебюте ALK⁺ АККЛ характерны распространенные стадии болезни с экстранодальным поражением (кожа, мягкие ткани, кости, легкие, печень, селезенка и костный мозг), наличие В-симптомов. Чаще болеют мужчины. Гистологически выделяют 2 морфологических типа – общий (common type) (65% случаев) и редкий (non common type), который ассоциирован с худшим прогнозом. Часто ALK⁺ АККЛ ассоциированы с t(2;5) и t(1;2), что приводит к образованию химерных белков NPM-ALK и TPM3-ALK соответственно. Данные по терапии Р-Р ALK⁺ АККЛ ограничены. Ранее была продемонстрирована высокая эффективность таргетной терапии (брентуксимаб ведотин (БВ), ингибиторы ALK) и риск-адаптированной химиотерапии с использованием трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) для консолидации ремиссии. Начиная с 2002 г., в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой проходили лечение 15 пациентов с Р-Р ALK⁺ АККЛ. В 14 (93%) случаях был обычный морфологический тип (common type), в 1 (7%) – редкий морфологический тип (non common type) – гистиоцитарный. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Экспрессия CD3 на опухолевых клетках присутствовала у 4 (27%) пациентов, отсутствовала у 8 (53%), у 3 (20%) – нет данных. Медиана возраста на момент постановки диагноза 26 лет (11 месяцев – 37 лет). Медиана наблюдения от момента постановки диагноза составила 9 (1–19) лет. Взрослых пациентов (> 18 лет) было 9 (60%), детей (< 18 лет) – 6 (40%). Пациентов мужского пола – 10 (67%), женского – 5 (33%). В дебюте заболевания (согласно классификации St. Jude у детей, Ann Arbour – у взрослых) ранние стадии (II) диагностированы у 2 (13%) пациентов, распространенные (III и IV) – у 2 (13%) и 11 (74%) соответственно. У 13 (86%) больных было экстранодальное поражение. В 4 (27%) случаях наблюдалось рефрактерное течение заболевания (прогрессия в первые 3 мес или отсутствие полной ремиссии на фоне терапии 1-й линии), в остальных 11 (73%) – рецидивирующее. Ранний рецидив (< 12 мес после достижения ремиссии) зарегистрирован у 6 пациентов, поздний (> 12 мес) – у 5; локальный (1 анатомическая область) – у 7, системный – у 4. Пациенты получили от 2 до 7 линий терапии (медиана 4). В качестве 1-й линии терапии использовали протоколы на основе NHL-BFM ($n=9$; 60%), CHOP ($n=5$; 33%) и HyperCVAD ($n=1$; 7%). В качестве 2-й линии терапии у 8 (53%) пациентов проводили протоколы на основе NHL-BFM, GDP – у 2 (13%), DHAP – у 1 (7%), у 1 (7%) – метотрексат (MTX) + винбластин (V), у 1 (7%) – бендамустин в монорежиме; химиотерапию в комбинации с таргетными препаратами получили 2 (13%) пациента (GDP + БВ – 1, NHL-BFM + кризотиниб – 1). В качестве 3-й и последующих линий терапии использовали различные схемы полихимиотерапии ($n=5$; 33%) и химиотерапию в комбинации с таргетными препаратами ($n=10$; 67%). Пять (33%) пациентов получали терапию ингибитором ALK (кризотиниб – 4, церитиниб – 1). У 7 (46%) человек использовали БВ (монотерапия – 4, в комбинации с химиотерапией – 3). Медиана линий терапии перед аутологичной ТГСК (ауто-ТГСК) составила 2 (2–3), перед аллогенной ТГСК (алло-ТГСК) – 3 (3–4). Ауто-ТГСК была выполнена у 11 (73%) пациентов, алло-ТГСК – у 9 (60%) (от совместимого неродственного донора – у 6, от совместимого родственного – у 2, от гаплоидентичного – у 1). Одному пациенту в качестве поддерживающей терапии были введены NK-клетки от гаплоидентичного донора. Алло-ТГСК в 5 (33%) случаях была проведена после предшествующей ауто-ТГСК. В качестве режима кондиционирования (РК) при ауто-ТГСК в 5 (45%) случаях использовали ВЕАМ (кармустин – 300 мг/м², этопозид – 800 мг/м², цитозар – 1600 мг/м², мелфалан – 140 мг/м²), в 5 (45%) – ВеАМ (бендамустин – 320 мг/м², этопозид – 800 мг/м², цитозар – 1600 мг/м², мелфалан – 140 мг/м²), в 1 (10%) – ВuСу (циклофосфан – 100 мг/кг, бусульфид – 14 мг/кг). При алло-ТГСК у 7 (78%) пациентов РК включал FluBenda (флударабин – 90–150 мг/м², бендамустин – 390 мг/м²), профилактику реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) на основе посттрансплантационного циклофосфана и ингибиторов кальциневрина, у

1 (11%) – PK FluMel (флударабин – 150 мг/м², мелфалан – 140 мг/м²), профилактику РТПХ – CsA/MTX (циклоsporин А, метотрексат), в 1 (11%) случае РК и профилактика РТПХ были неизвестны. Общий ответ на 2-ю линию терапии был у 10 (67%) пациентов: полный – у 7 (47%), частичный – у 3 (20%). Из 7 больных, которые получали БВ в разных линиях терапии, у 5 достигнут полный ответ. После назначения 5 пациентам ингибиторов ALK в 4 случаях достигнут полный ответ. Долгосрочная десятилетняя общая выживаемость (ОВ) всех пациентов составила 90% (95% доверительный интервал (ДИ) 47–99). Десятилетняя выживаемость без прогрессирования (ВБП) после 2-й линии терапии – 39% (95% ДИ 13–64). Десятилетняя ОВ и ВБП после ауто-ТГСК составили 100% и 35% (95% ДИ 8–64) соответственно. Пятилетняя ОВ после алло-ТГСК – 85% (95% ДИ 33–98), ВБП – 60% (95% ДИ 19–85). После ауто-ТГСК у 4 из 11 пациентов развился рецидив, у 2 отмечена прогрессия заболевания. Медиана до развития рецидива/прогрессии составила 8 (6–27) мес. После алло-ТГСК у 3 из 9 пациентов развился рецидив (медиана 8 (6–17) мес). У 2 человек была достигнута повторная ремиссия (в одном случае после назначения церитиниба, во втором – после удаления очага, лучевой терапии и назначения кризотиниба), 1 пациент в исследовании погиб от прогрессии заболевания через 17 мес после алло-ТГСК. Все 6 человек, которые были в полной ремиссии перед алло-ТГСК, ее сохраняют. У 5 пациентов из 9 отмечалось развитие острой РТПХ II степени с поражением кожи, хронической РТПХ не было. Осложнения после химиотерапии и ауто-ТГСК являлись стандартными и контролируемыми и не были предметом изучения данной работы. Учитывая высокую вероятность развития резистентности к ингибиторам ALK, высокий риск рецидива после БВ, таргетная терапия должна применяться как подготовка к ТГСК. Применение ингибиторов ALK и БВ в нашей работе сопровождалось достижением повторной ремиссии у 80% и 71% пациентов соответственно. Было показано, что даже при значительной предлеченности пациентов с ALK⁺ АККЛ, в отличие от других неходжкинских лимфом, излечивается значительная часть пациентов, особенно при использовании алло-ТГСК. Тем не менее мы считаем, что ауто-ТГСК также может рассматриваться для консолидации ремиссии, так как показатели ОВ при ауто-ТГСК и алло-ТГСК сопоставимы (100% и 85% соответственно). Более того, ауто-ТГСК может рассматриваться при отсутствии полностью совместимого донора, т. е. при наличии только альтернативного донора (гаплоидентичного и частично совместимого), так как данных по применению гаплоидентичной ТГСК при АККЛ недостаточно. Это направление представляет интерес для дальнейшего изучения. Нами продемонстрирована возможность проведения немиелоаблативного РК перед алло-ТГСК (FluBenda) у пациентов с Р-Р ALK⁺ АККЛ и его сопоставимая эффективность с миелоаблативными РК в сравнении с историческим контролем. Показано, что статус перед ТГСК оказывал статистически значимое влияние на ВБП (лучший прогноз в случае полной ремиссии). В то же время другие факторы не оказывали влияния на прогноз. Вероятно, это связано с относительно небольшим числом пациентов, включенных в исследование. Р-Р ALK⁺ АККЛ является заболеванием с относительно благоприятным прогнозом даже у значительно предлеченных пациентов. Таргетная терапия – это важный и эффективный способ подготовки к ТГСК. Алло-ТГСК обладает большей эффективностью по сравнению с ауто-ТГСК, однако последняя также может рассматриваться как возможная опция терапии.

Ключевые слова: рецидивирующее течение, рефрактерное течение, анапластическая крупноклеточная лимфома, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, брентуксимаб ведотин, ингибиторы ALK

Галимов А.Н. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 22–31. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-22-31

The treatment of relapsed/refractory anaplastic large cell lymphoma expressing the anaplastic lymphoma kinase: a single-center experience

A.N. Galimov, E.E. Lepik, A.V. Kozlov, A.G. Gevorgyan, I.V. Kazantsev, T.V. Yukhta, V.V. Baykov, A.N. Shvetsov, I.Yu. Nikolayev, P.S. Tolkunova, N.B. Mikhaylova, K.V. Lepik, Yu.A. Punanov, A.D. Kulagin, L.S. Zubarovskaya

R.M. Gorbacheva Research Institute, Pavlov University, Saint-Petersburg

Anaplastic large cell lymphoma (ALCL) expressing the anaplastic lymphoma kinase (ALK) (ALK⁺ ALCL) is a rare type of lymphoma which comprises 10–15% of all non-Hodgkin lymphomas in children and 2–3% in young adults. Relapsed/refractory disease occurs even more rarely (25–40% of all cases). There is as yet no standard treatment for relapsed/refractory ALK⁺ ALCL. Patients with ALK⁺ ALCL usually present at advanced stages of the disease with extranodal involvement (skin, soft tissues, bones, lungs, liver, spleen and bone marrow) and B symptoms. ALK-positive ALCL affects males more often than females. There are two morphological variants: the common type (65% of cases) and the non-common type which is associated with a poorer prognosis. ALK⁺ ALCLs are often associated with t(2;5) and t(1;2), resulting in the formation of the NPM-ALK and the TPM3-ALK fusion proteins, respectively. Data about the treatment of relapsed/refractory ALK⁺ ALCL are limited. Earlier, targeted therapies (brentuximab vedotin (BV), ALK inhibitors) and risk-adapted chemotherapy followed by hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) for remission consolidation were shown to be highly effective. A total of 15 patients with relapsed/refractory ALK⁺ ALCL were treated at the R.M. Gorbacheva Research Institute starting from 2002. Fourteen (93%) patients had ALK-positive ALCL of common morphology and one (7%) patient had the non-common variant (histiocytic). The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Pavlov University. The expression of CD3 on tumor cells was assessed (CD3 positive: $n = 4$ (27%), CD3 negative: $n = 8$ (53%), no data: $n = 3$ (20%). The median age at the diagnosis was 26 years (11 months–37 years). The median follow-up from the diagnosis was 9 years (1–19 years). Nine (60%) patients were aged > 18 years and six (40%) patients were aged < 18 years. There were 10 (67%) males and 5 (33%) females. At onset, 2 (13%) patients were diagnosed with early-stage disease (stage II), while the others were diagnosed with advanced-stage disease: 2 (13%) patients had stage III disease and 11 (74%) had stage IV disease. Staging was performed according to the St. Jude staging system (in children) and the Ann Arbor staging classification (in adults). Thirteen (86%) patients had extranodal involvement. Four (27%) patients had refractory disease (progression within the first three months or the absence of complete remission after the first-line treatment) and the rest 11 (73%) patients had recurrent ALK-positive ALCL. Six patients developed early relapse (< 12 months after remission was achieved); 5 patients had late relapse (after > 12 months of remission); local (1 site) and systemic relapses were diagnosed in 7 and 4 patients, respectively. Our patients received from 2 to 7 lines of treatment (the median is 4). In the first line of therapy, the patients were treated according to NHL-BFM based regimens ($n = 9$; 60%), the CHOP ($n = 5$; 33%), and the HyperCVAD ($n = 1$; 7%) protocols. In the second line of therapy, 8 (53%) patients were

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 12.10.2022

Accepted 13.01.2023

Correspondence:

Alexander N. Galimov,
a pediatrician at the R.M. Gorbacheva
Research Institute, Pavlov University
Address: 6/8, Leo Tolstoy Street,
197022, St. Petersburg
E-mail: 94gal94@gmail.com

treated according to NHL-BFM based regimens; 2 (13%) patients were treated with GDP; 1 (7%) patient received DHAP chemotherapy; 1 (7%) patient received a combination of methotrexate and vinblastine (MTX + V); 1 (7%) patient received bendamustine as a single agent. Two (13%) patients were treated with chemotherapy in combination with targeted drugs (GDP + BV, $n = 1$; NHL-BFM + crizotinib, $n = 1$). As a third or subsequent line of treatment, the patients received a variety of chemotherapy regimens ($n = 5$; 33%) and chemotherapy in combination with targeted drugs ($n = 10$; 67%). Five (33%) patients underwent ALK-inhibitor therapy (crizotinib ($n = 4$) and ceritinib ($n = 1$)). Seven (46%) patients were treated with BV (BV as a single agent ($n = 4$) and BV + chemotherapy ($n = 3$)). The median number of treatment lines before autologous HSCT (auto-HSCT) and allogeneic HSCT (allo-HSCT) was 2 (2–3) and 3 (3–4), respectively. Auto-HSCT was carried out in 11 (73%) cases. Nine (60%) patients underwent allo-HSCT (from a matched unrelated donor ($n = 6$), from a matched related donor ($n = 2$), and from a haploidentical donor ($n = 1$)). One patient received NK cells from a haploidentical donor as maintenance. In 5 (33%) cases, allo-HSCT was carried out following auto-HSCT. The conditioning regimens (CR) used for auto-HSCT included BEAM (carmustine – 300 mg/m², etoposide – 800 mg/m², Cytosar – 1600 mg/m², melphalan – 140 mg/m²) – in 5 (45%) patients; BeEAM (bendamustine – 320 mg/m², etoposide – 800 mg/m², Cytosar – 1600 mg/m², melphalan – 140 mg/m²) – in 5 (45%) patients; and BuCy (Cyclophosphan – 100 mg/kg, busulfan – 14 mg/kg) – in 1 (10%) case. Seven (78%) patients undergoing allo-HSCT received the FluBenda conditioning regimen (fludarabine – 90–150 mg/m², bendamustine – 390 mg/m²) and post-transplant Cyclophosphan and calcineurin inhibitors for the prevention of graft-versus-host disease (GVHD) ($n = 7$; 78%); one (11%) patient received the FluMel regimen (fludarabine – 150 mg/m², melphalan – 140 mg/m²) and CsA/MTX (Cyclosporin A, methotrexate) for GVHD prevention; and in 1 case (11%) data on the RC and GVHD prophylaxis were missing. Overall response to the second line of treatment was achieved in 10 (67%) patients, with complete response observed in 7 (47%) cases, and partial response – in 3 (20%) cases. Five out of the 7 patients treated with BV during different lines of therapy managed to achieve complete response. Four out of the 5 patients who had undergone treatment with ALK inhibitors, demonstrated complete response. The 10-year overall survival (OS) rate of the study patients reached 90% (95% confidence interval (CI) 47–99). The 10-year progression-free survival (PFS) rate after the second line of treatment was 39% (95% CI 13–64). The 10-year OS and PFS rates after auto-HSCT were 100% and 35% (95% CI 8–64) respectively. The 5-year OS following allo-HSCT was 85% (95% CI 33–98), while PFS was 60% (95% CI 19–85). Four out of the 11 patients who had undergone auto-HSCT relapsed, and 2 patients progressed. Median time to relapse/progression was 8 (6–27) months. Three out of the 9 patients who had been treated with allo-HSCT ended up relapsing (median time: 8 (6–17) months). Two patients achieved repeated remission (in one case, it was the result of treatment with ceritinib, while in the other case it became possible after the resection of the lesion, radiotherapy and prescription of crizotinib), and 1 study patient died as a result of disease progression 17 months after allo-HSCT. The 6 patients who had achieved complete remission before undergoing allo-HSCT, are still in CR. Five out of the 9 patients developed grade I–II acute GVHD with skin involvement but did not show any signs of chronic GVHD. The observed complications of chemotherapy and auto-HSCT were standard and manageable and were not the focus of attention in this study. Taking into account the high probability of developing resistance to ALK inhibitors and the high risk of relapse after treatment with BV, targeted therapy should be used to prepare patients for HSCT. The use of ALK inhibitors and BV in our study led to repeated remission in 80% and 71% patients respectively. It was demonstrated that in the majority of cases even heavily pretreated patients with ALK⁺ ALCL can be cured (which is not the case with other non-Hodgkin lymphomas), especially if allogeneic HSCT (allo-HSCT) is carried out. Still, we think that auto-HSCT can also be considered for remission consolidation since OS rates following auto-HSCT and allo-HSCT are comparable (100% and 85%). Moreover, auto-HSCT can also be a valid option in the absence of a fully matched donor, i.e. when only an alternative (haploidentical or partially matched) donor is available, since the use of haploidentical HSCT in ALCL patients has not been studied well enough yet. Further research on the matter is warranted. It was demonstrated that a non-myeloablative conditioning regimen before allo-HSCT (FluBenda) could be opted for in patients with relapsed/refractory ALK⁺ ALCL and that it was similarly effective as myeloablative RC when compared with a historical control group. Disease status before HSCT was proven to have a statistically significant influence on PFS (the best prognosis was associated with complete remission). At the same time, other factors did not impact the prognosis. This may be explained by the relatively small number of patients included in the study. Relapsed/refractory ALK⁺ ALCL is a disease with a relatively good prognosis even in heavily pretreated patients. Targeted therapy is a very important and effective step in preparation for HSCT. Allo-HSCT is more effective than auto-HSCT but the latter can also be considered a valid therapeutic option.

Key words: relapsed disease, refractory disease, anaplastic large cell lymphoma, hematopoietic stem cell transplantation, brentuximab vedotin, ALK inhibitors

Galimov A.N., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 22–31.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-22-31

Анапластические крупноклеточные лимфомы (АККЛ) – группа злокачественных опухолей лимфоидного происхождения, которые составляют 10–15% всех неходжкинских лимфом (НХЛ) у детей и 2–3% – у молодых взрослых [1]. Экспрессия киназы анапластической лимфомы (anaplastic lymphoma kinase, ALK) носит вариабельный характер и обнаруживается у детей и взрослых с АККЛ в 55–85% случаев [2]. После стандартной химиотерапии (ХТ) 1-й линии у 25–40% пациентов с АККЛ, экспрессирующей ALK (ALK⁺ АККЛ), развивается рецидив. Стандартов лечения рецидивирующей и рефрактерной (Р-Р) ALK⁺ АККЛ не разработано. В нашей статье приводятся обзор литературы и опыт НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России по лечению Р-Р ALK⁺ АККЛ.

ALK⁺ АККЛ – это агрессивная периферическая Т-клеточная НХЛ, которая характеризуется поражением лимфатических узлов. Экстранодальные локализации преимущественно представлены пора-

жением кожи, мягких тканей, костей, легких, печени, селезенки и костного мозга. Поражение центральной нервной системы встречается редко. В-симптомы отмечаются примерно у половины пациентов. АККЛ чаще встречается у лиц мужского пола. Выделяют локализованную и распространенную (III и IV стадии заболевания) формы заболевания. В дебюте заболевания чаще диагностируются распространенные стадии [3, 4]. Гистологически выделяют 2 морфологических типа – общий (common type) (встречается в 65% случаев) и редкий (non common type), который представлен несколькими гистологическими вариантами: гистиоцитарным, мелкоклеточным, смешанно-клеточным (в 1 пораженной зоне сочетает несколько вариантов), гигантским (напоминающий лимфому Ходжкина), саркомоподобным. Редкие гистологические варианты ALK⁺ АККЛ ассоциированы с худшим прогнозом [5]. Отличительными иммуногистохимическими особенностями АККЛ являются значимая экспрессия CD30, вариабельная

экспрессия Т-клеточных маркеров (CD3, CD4, CD5, CD7, CD8) при отсутствии В-клеточных и гистиоцитарных маркеров. Часто АЛК⁺ АККЛ ассоциированы с t(2;5) с образованием химерного гена *NPM-ALK* (75–80%) и с t(1;2) с образованием химерного гена *TPM3-ALK* (12–18%), которые способствуют активации клеточных сигнальных путей, в частности Jak/STAT3/pSTAT3tyr705 [6, 7]. Мониторинг химерного белка NPM-ALK позволяет оценивать минимальную диссеминированную болезнь в крови и/или костном мозге больных. Общая выживаемость (ОВ) больных без минимальной диссеминированной болезни выше в 1,5 раза [8]. Неблагоприятными прогностическими факторами являются экспрессия Т-клеточного маркера CD3, CD8, активация сигнального пути pSTAT3tyr705 [9–11]. Известно, что экспрессия ALK при АККЛ сопряжена с более благоприятным прогнозом [12]. В отличие от других вариантов НХЛ при развитии Р-Р ALK⁺ АККЛ прогноз остается относительно благоприятным ввиду высокой эффективности химиотерапии, таргетной терапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [13, 14]. В качестве терапии 2-й линии Р-Р АККЛ может применяться риск-адаптированная стратегия ХТ с использованием ТГСК для консолидации ремиссии. Из-за меньшей частоты рецидивов предпочтительнее использовать аллогенную ТГСК (алло-ТГСК), чем аутологичную ТГСК (ауто-ТГСК) [15]. В то же время преимуществом ауто-ТГСК является более низкая трансплантационная летальность. В случае рецидива после ауто-ТГСК в дальнейшем обычно возможно достижение очередной ремиссии с помощью таргетной терапии. Важной особенностью ALK⁺ АККЛ является то, что в отличие от всех других видов лимфом алло-ТГСК может рассматриваться у больных вне ремиссии, так как эта опция эффективна у части пациентов с активным заболеванием [15, 16]. Особую роль в лечении Р-Р ALK⁺ АККЛ играет таргетная терапия: брентуксимаб ведотин (БВ) (анти-CD30) и ингибиторы ALK (кризотиниб, церитиниб). Эти препараты улучшили результаты лечения пациентов с АККЛ и в будущем могут дополнить или даже заменить текущий стандарт лечения [14].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Начиная с 2002 г., в НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой проходили лечение 15 пациентов с Р-Р ALK⁺ АККЛ. В 14 (93%) случаях был установлен обычный морфологический тип (common type), в 1 (7%) случае диагностирован редкий морфологический тип (non common type) – гистиоцитарный. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ

ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Экспрессия CD3 на опухолевых клетках присутствовала у 4 (27%) пациентов, отсутствовала у 8 (53%), у 3 (20%) – нет данных. Характеристика пациентов представлена в таблице 1. Медиана возраста на момент постановки диагноза 26 лет (11 месяцев – 37 лет). Медиана наблюдения за пациентами от момента постановки диагноза составила 9 (1–19) лет. Взрослых пациентов (> 18 лет) было 9 (60%), детей (< 18 лет) – 6 (40%). Пациентов мужского пола было в 2 раза больше – 10 (67%), чем женского – 5 (33%). В дебюте заболевания (согласно классификации St. Jude у детей, Ann Arbour – у взрослых) ранние стадии (II) диагностированы у 2 (13%) пациентов, распространенные (III и IV) – у 2 (13%) и 11 (74%) соответственно. В дебюте заболевания у 13 (86%) пациентов отмечено экстранодальное поражение, при этом центральная нервная система и костный мозг были вовлечены в 4 (27%) и 1 (7%) случае соответственно. У 4 (27%) пациентов отмечали рефрактерное течение заболевания (прогрессия в первые 3 мес или отсутствие полной ремиссии на фоне терапии 1-й линии). У остальных больных был диагностирован рецидив ($n = 11$; 73%), при этом у 6 (40%) – ранний (< 12 мес после достижения ремиссии) и у 5 (33%) – поздний (> 12 мес). В 4 (27%) случаях развились системные рецидивы, в 7 (46%) – локальные (1 анатомическая область). Пациенты получили от 2 до 7 линий терапии (медиана 4). В качестве 1-й линии терапии использовали протоколы на основе NHL-BFM ($n = 9$; 60%), CHOP ($n = 5$; 33%) и HyperCVAD ($n = 1$; 7%). В качестве 2-й линии терапии у 8 (53%) пациентов проводили протоколы на основе NHL-BFM, GDP – у 2 (13%), DHAP – у 1 (7%), метотрексат (MTX) + винбластин (V) – у 1 (7%), бендамустин в монорежиме – у 1 (7%); ХТ в комбинации с таргетными препаратами получили 2 (13%) пациента (GDP + БВ – 1, NHL-BFM + кризотиниб – 1). В качестве 3-й и последующих линий терапии использовали различные схемы полихимиотерапии ($n = 5$; 33%) и ХТ в комбинации с таргетными препаратами ($n = 10$; 67%). Пять (33%) пациентов получали терапию ингибитором ALK (кризотиниб – 4, церитиниб – 1). В 7 (46%) случаях использовали БВ (монотерапия – 4, в комбинации с ХТ – 3). Медиана линий терапии перед ауто-ТГСК составила 2 (2–3), перед алло-ТГСК – 3 (3–4). Ауто-ТГСК была выполнена у 11 (73%) человек, алло-ТГСК – у 9 (60%) (от совместимого неродственного донора – у 6, от совместимого родственного – у 2, от гаплоидентичного – у 1). Одному пациенту в качестве поддерживающей терапии были введены NK-клетки от гаплоидентичного донора. Алло-ТГСК в 5 (33%) случаях была проведена после предшествующей ауто-ТГСК. В качестве режима кондиционирования

(РК) при ауто-ТГСК в 5 (45%) случаях использовали ВЕАМ (кармустин – 300 мг/м², этопозид – 800 мг/м², цитозар – 1600 мг/м², мелфалан – 140 мг/м²), в 5 (45%) – ВеАМ (бендамустин – 320 мг/м², этопозид – 800 мг/м², цитозар – 1600 мг/м², мелфалан – 140 мг/м²), в 1 (10%) – ВuCu (циклофосфан – 100 мг/кг, бусульфан – 14 мг/кг). Наиболее частый РК при алло-ТГСК включал FluBenda (флударабин – 90–150 мг/м², бендамустин – 390 мг/м²), профилактику реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) на основе посттрансплантационного циклофосфана и ингибиторов кальциневрина ($n = 7$; 78%), у

1 (11%) пациента РК включал FluMel (флударабин – 150 мг/м², мелфалан – 140 мг/м²), профилактику РТПХ – CsA/MTX (циклоспорин А, метотрексат). В 1 (11%) случае РК и профилактика РТПХ неизвестны. Ответ на лечение оценивали по критериям Lugano [17]. Статистический анализ выполняли с помощью программы Easy R. Главными целями исследования были ОВ и выживаемость без прогрессирования (ВБП), которые рассчитывали с использованием метода Каплана–Майера, разницу в параметрах анализировали на основании log-rank-критерия.

Таблица 1
Характеристика пациентов

Table 1
Patient characteristics

Пациент Patient	Возраст на момент постановки диагноза Age at diagnosis	Терапия Therapy	Количество линий терапии перед последней ТГСК The number of treatment lines before the last HSCT	Статус перед последней ТГСК Disease status before the last HSCT	Последняя или единственная ТГСК The last HSCT	Длительность наблюдения от последней ТГСК, мес Follow-up period from the last HSCT, months	Статус на момент последнего контакта Disease status at the last visit
1	2	3	4	5	6	7	8
№1	11 месяцев 11 months	NHL-BFM-90, NHL-BFM-90, COP, ауто-ТГСК, БВ, алло-ТГСК NHL-BFM-90, NHL-BFM-90, COP, auto-HSCT, BV, allo-HSCT	4	ПО CR	Алло-ТГСК Allo-HSCT	78	Жив, ремиссия Alive in remission
№2	3 года 3 years	ALCL-99, ALCL-relapse 2004, ауто-ТГСК ALCL-99, ALCL-relapse 2004, auto-HSCT	2	ПО CR	Ауто-ТГСК Auto-HSCT	6	Жив, ремиссия Alive in remission
№3	7 лет 7 years	NHL-BFM-95, NHL-BFM-90, ICE, ауто-ТГСК + MTX + V + НК-клетки, EURO-LB2002, CHOP, MTX + AraC + Деха + ЛТ, CNOP NHL-BFM-95, NHL-BFM-90, ICE, auto-HSCT + MTX + V + NK cells, EURO-LB2002, CHOP, MTX + AraC + Dexamethasone + RT, CNOP	3	ПО CR	Ауто-ТГСК Auto-HSCT	152	Жив, ремиссия Alive in remission
№4	8 лет 8 years	NHL-BFM, ALCL-Rez-2016 + кризотиниб, СС + кризотиниб, алло-ТГСК, ЛТ + кризотиниб NHL-BFM, ALCL-Rez-2016 + crizotinib, allo-HSCT, RT + crizotinib	3	ЧО PR	Алло-ТГСК Allo-HSCT	18	Жив, ремиссия Alive in remission
№5	11 лет 11 years	NHL-BFM-95, NHL-BFM 95 + ICE, ауто-ТГСК, БВ, алло-ТГСК, ЛТ NHL-BFM-95, NHL-BFM 95 + ICE, auto-HSCT, BV, allo-HSCT, RT	3	ПО CR	Алло-ТГСК Allo-HSCT	59	Жив, ремиссия Alive in remission
№6	12 лет 12 years	NHL-BFM-2012, MTX + V, ICE + БВ, ауто-ТГСК + кризотиниб, ViGePP + БВ + кризотиниб, алло-ТГСК NHL-BFM-2012, MTX + V, ICE + BV, auto-HSCT + crizotinib, ViGePP + BV + crizotinib, allo-HSCT	4	ПЗ PD	Алло-ТГСК Allo-HSCT	11	Жив, ремиссия Alive in remission
№7	24 года 24 years	CHOP, GDP, Be + кризотиниб, алло-ТГСК CHOP, GDP, Be + crizotinib, allo-HSCT	3	ПО CR	Алло-ТГСК Allo-HSCT	3	Жив, ремиссия Alive in remission
№8	26 лет 26 years	R-CHOP, R-DexaBEAM, ауто-ТГСК + кризотиниб R-CHOP, R-DexaBEAM, auto-HSCT + crizotinib	2	ЧО PR	Ауто-ТГСК Auto-HSCT	174	Жив, ремиссия Alive in remission
№9	28 лет 28 years	NHL-BFM-90, GDP, GIFOX, алло-ТГСК, DLI, гемцитабин + DLI + ЛТ, БВ + DLI, церитиниб NHL-BFM-90, GDP, GIFOX, allo-HSCT, DLI, gemcitabine + DLI + RT, BV + DLI	3	ПЗ PD	Алло-ТГСК Allo-HSCT	108	Жив, ремиссия Alive in remission
№10	34 года 34 years	CHOP, NHL-BFM-90, ауто-ТГСК CHOP, NHL-BFM-90, auto-HSCT	2	ПО CR	Ауто-ТГСК Auto-HSCT	38	Жив, ремиссия Alive in remission
№11	35 лет 35 years	CHOP, NHL-BFM-90, ауто-ТГСК CHOP, NHL-BFM-90, auto-HSCT	2	ПО CR	Ауто-ТГСК Auto-HSCT	79	Жив, ремиссия Alive in remission

1	2	3	4	5	6	7	8
№12	36 лет 36 years	CHOEП, БВ + GDP, ауто-ТГСК + БВ CHOEП, BV + GDP, auto-HSCT + BV	2	ПО CR	Ауто-ТГСК Auto-HSCT	10	Жив, ремиссия Alive in remission
№13	36 лет 36 years	NHL-BFM-90, TL-REZ-2008 + ALL-2009, БВ, БВ + Be, алло-ТГСК NHL-BFM-90, TL-REZ-2008 + ALL-2009, BV, BV + Be, allo-HSCT	4	ЧО PR	Алло-ТГСК Allo-HSCT	17	Умер, прогрессия Died, progression
№14	36 лет 36 years	HyperCVAD, Be, GVP, БВ, алло-ТГСК, IDL HyperCVAD, Be, GVP, BV, allo-HSCT, IDL	4	ПО CR	Алло-ТГСК Allo-HSCT	89	Жив, ремиссия Alive in remission
№15	37 лет 37 years	NHL-BFM-90, ауто-ТГСК, DHAP, ICE, алло-ТГСК NHL-BFM-90, auto-HSCT, DHAP, ICE, allo-HSCT	3	ПО CR	Алло-ТГСК Allo-HSCT	75	Жив, ремиссия Alive in remission

Примечание. MTX – метотрексат; V – винбластин; AraC – цитарабин; Деха – дексаметазон; CNOP – циклофосфамид, винкристин, преднизолон, митоксантрон; COP – циклофосфан, винбластин, преднизолон; ICE – ифосфамид, карбоплатин, этопозид; ViGePP – винорелбин, гемцитабин, прокарбазин, преднизолон; CHOEП – циклофосфамид, доксорубин, винкристин, этопозид, преднизолон; GDP – гемцитабин, дексаметазон, цисплатин; Be – бендамустин; GVP – гемцитабин, винорелбин, цисплатин; HyperCVAD – циклофосфамид, доксорубин, винкристин, метотрексат, дексаметазон, цитарабин; R-CHOP – ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизолон; R-ДехаBEAM – ритуксимаб, дексаметазон, кармустин, этопозид, цитарабин, мелфалан; GIFOX – гемцитабин, этопозид, оксалиплатин; DLI – инфузия донорских лимфоцитов; DHAP – дексаметазон, высокодозный цитарабин, цисплатин; CHOEП – циклофосфамид, доксорубин, винкристин, этопозид, преднизолон; CC – дексаметазон, этопозид, винкристин, цитарабин, метотрексат/цитарабин/преднизолон интратекально; ПО – полный ответ; ЧО – частичный ответ; ПЗ – прогрессия заболевания; ЛТ – лучевая терапия.

Notes. MTX – methotrexate; V – vinblastine; AraC – cytarabine; Dеха – dexamethasone; CNOP – cyclophosphamide, vincristine, prednisolone, mitoxantrone; COP – cyclophosphan, vinblastine, prednisolone; BV – brentuximab vedotin; ICE – ifosfamide, carboplatin, etoposide; ViGePP – vinorelbine, gemcitabine, procarbazine, and prednisolone; CHOEП – cyclophosphamide, doxorubicin, etoposide, vincristine, and prednisolone; GDP – gemcitabine, dexamethasone, and cisplatin; Be – bendamustine; GVP – gemcitabine, vinorelbine, and cisplatin; HyperCVAD – cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, methotrexate, dexamethasone, and cytarabine; R-CHOP – rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone; R-ДехаBEAM – rituximab, dexamethasone, carmustine, etoposide, cytarabine, melphalan; GIFOX – gemcitabine, ifosfamide, oxaliplatin; DLI – donor lymphocyte infusion; DHAP – dexamethasone, high-dose cytarabine, and cisplatin; CHOEП – cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, etoposide, and prednisolone; CC – dexamethasone, etoposide, vincristine, cytarabine, methotrexate/cytarabine/prednisolone intrathecally; CR – complete response; PR – partial response; PD – progressive disease; auto-HSCT – autologous hematopoietic stem cell transplantation; allo-HSCT – allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; RT – radiation therapy.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общий ответ на 2-ю линию терапии был зафиксирован у 10 (67%) пациентов: ПО – у 7 (47%), ЧО – у 3 (20%). Из 7 пациентов, которые получали БВ в разных линиях терапии, у 5 был достигнут ПО. После назначения 5 пациентам ингибиторов ALK у 4 был достигнут ПО (таблица 2). При медиане наблюдения 9 (1–19) лет 10-летняя ОВ всех пациентов составила 90% (95% доверительный интервал (ДИ) 47–99) (рисунки 1). Десятилетняя ВБП после 2-й линии терапии составила 39% (95% ДИ 13–64) (рисунки 2). В исследовании умер 1 пациент (прогрессия АККЛ). Десятилетняя ОВ и ВБП после ауто-ТГСК составили 100% и 35% (95% ДИ 8–64) соответственно (рисунки 3). Пятилетняя ОВ после алло-ТГСК – 85% (95% ДИ 33–98) и ВБП – 60% (95% ДИ 19–85) (рисунки 4). После ауто-ТГСК у 4 из 11 пациентов развился рецидив, у 2 отмечена ПЗ. Медиана до развития рецидива/прогрессии составила 8 (6–27) мес. После алло-ТГСК у 3 из 9 пациентов развился рецидив (медиана 8 (6–17) мес). Терапия в случае возникновения рецидива/прогрессии после ТГСК представлена в таблице 1. У 5 из 9 пациентов после алло-ТГСК отмечалось развитие острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) I–II степени с поражением кожи, хронической РТПХ отмечено не было. Осложнения после ХТ и ауто-ТГСК являлись стандартными и контролируруемыми и не были предметом изучения данной работы. Анализировали влияние на ОВ и ВБП таких факторов, как пол, наличие В-симптомов, стадия болезни (локализованная (II) vs распространенная (III, IV)), течение АККЛ

(рефрактерное vs рецидивирующее), время возникновения рецидива (ранний vs поздний), число линий терапии до ТГСК, использование таргетной терапии на любом этапе лечения, экспрессия CD3 на момент постановки диагноза, распространенность рецидива (локальный vs системный). Ни один из этих показателей не оказывал влияния на ВБП и ОВ ($p > 0,1$). Была получена статистически достоверная корреляция статуса перед ТГСК (ПО vs неполный ответ) на ВБП ($p = 0,0001$). Так, у пациентов с ПО перед трансплантацией 5-летняя ВБП составила 87% (95% ДИ 38–98) и с неполным ответом – 0%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Учитывая, что общепризнанных стандартов лечения Р-Р ALK⁺ АККЛ в настоящее время не существует, анализ этой группы пациентов представляет

Таблица 2
Ответ на терапию

Table 2
Response to therapy

Параметр Parameter	Вторая линия тера- пии Second- line therapy	БВ ± ХТ BV ± chemotherapy	Ингибиторы ALK ± ХТ ALK inhibitors ± chemotherapy
		Оценка ответа независимо от линии терапии Assessment of response regardless of line of therapy	
Число пациентов, n Number of patients, n	15	7	5
ПО, n CR, n	7	5	4
ЧО, n PR, n	3	0	0
ПЗ, n PD, n	5	2	1
Частота общего ответа, n Overall response rate, n	10	5	4

Рисунок 1
ОВ всех пациентов ($n = 15$)

Figure 1
Overall survival (OS) of all patients ($n = 15$)

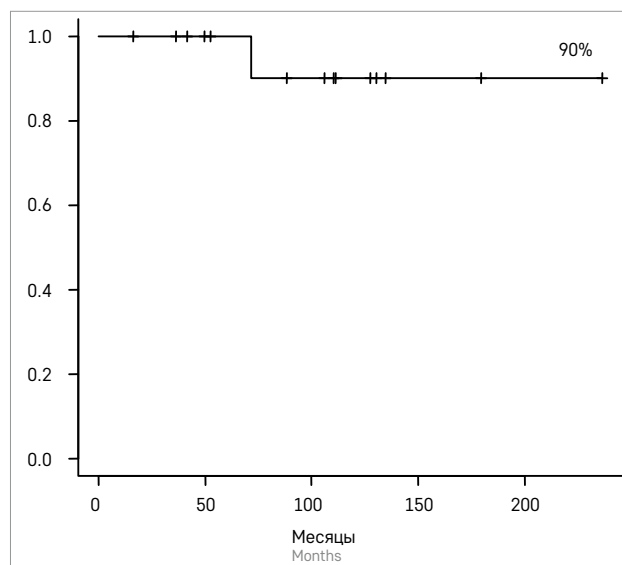


Рисунок 2
ВБП после 2-й линии терапии ($n = 15$)

Figure 2
Progression-free survival (PFS) after second-line therapy ($n = 15$)

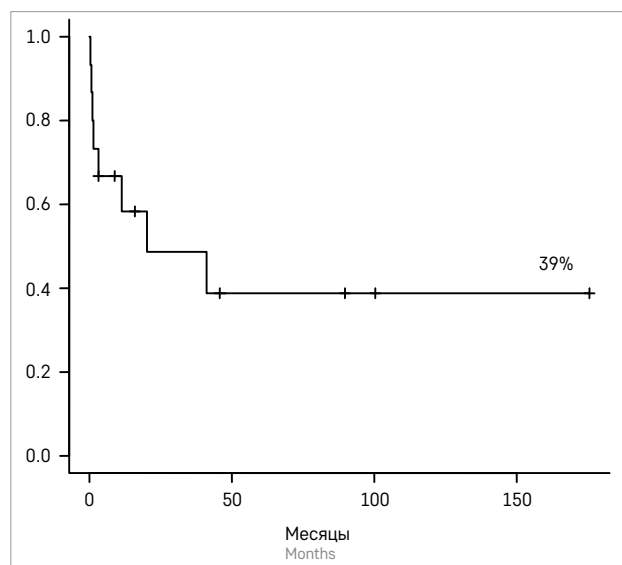


Рисунок 3
ОВ и ВБП после ауто-ТГСК ($n = 11$)

Figure 3
OS and PFS after auto-HSCT ($n = 11$)

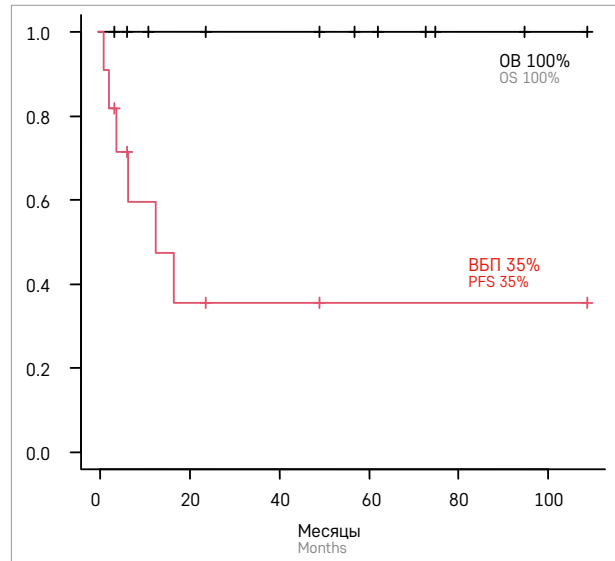
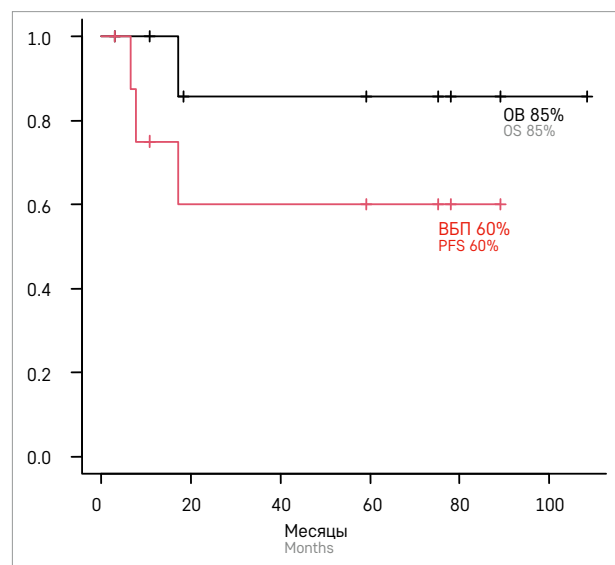


Рисунок 4
ОВ и ВБП после алло-ТГСК ($n = 9$)

Figure 4
OS and PFS after allo-HSCT ($n = 9$)



большой практический и научный интерес. С развитием таргетной терапии растет количество терапевтических возможностей в лечении данной патологии. Ранее были достигнуты высокие результаты лечения с использованием различных подходов терапии Р-Р ALK⁺ АККЛ, таких как ХТ, БВ, ингибиторы ALK, а также ТГСК [14]. Основные публикации по терапии приведены в таблице 3. В 2020 г. Европейская межцентровая группа по НХЛ у детей (EICNHL) представила один из подходов к терапии Р-Р АККЛ. Проводили риск-адаптированную ХТ независимо от статуса ALK. Группу риска определяли временем развития рецидива, экспрессией CD3, наличием в анамнезе винбластина. Для реиндукции второй ремиссии в

зависимости от группы риска использовали ХТ (ICM, ICI, CC, CVA или винбластин). У пациентов высокой группы риска для консолидации ремиссии применяли ТГСК, в то время как у больных низкой группы риска трансплантацию не использовали. Показатели 5-летней ОВ пациентов, получивших алло-ТГСК и ауто-ТГСК, составили 83% и 82% соответственно, бессобытийной выживаемости (БСВ) – 81% и 41% соответственно. При раннем рецидиве и рефрактерном течении АККЛ ауто-ТГСК не показала высокой эффективности в отличие от алло-ТГСК, а пациенты с поздним рецидивом могли быть излечены без трансплантации [15]. По опубликованным ранее данным, при Р-Р ALK⁺ АККЛ терапия БВ сопровождается

Таблица 3
Эффективность терапии при лечении Р-Р АККЛ

Table 3
The effectiveness of therapy for relapsed/refractory ALL

Автор, год, номер исследования Author, year, study number (if applicable)	Число пациентов, n Number of patients, n	Вид терапии Type of therapy	Результаты Outcomes
F. Knorr, 2020, NCT00317408 [15]	36	ХТ + алло-ТГСК (консолидация второй ремиссии) Chemotherapy + allo-HSCT (for second remission consolidation)	Пятилетняя ОВ 83%, 5-летняя БСВ 81% The 5-year OS: 83%, the 5-year event-free survival (EFS): 81%
	22	ХТ + ауто-ТГСК (консолидация второй ремиссии) Chemotherapy + auto-HSCT (for second remission consolidation)	Пятилетняя ОВ 82%, 5-летняя БСВ 41% The 5-year OS: 82%, the 5-year EFS: 41%
B. Pro, 2017, NCT00866047 [18]	58	БВ BV	ПО 38/58 (66%) CR 38/58 (66%)
	16	БВ + ТГСК (консолидация ПО с помощью ТГСК) BV + HSCT (for the consolidation of complete response)	Ауто-ТГСК: 5-летняя ОВ 88%, 5-летняя ВБП 75%. Алло-ТГСК: 5-летняя ОВ 63%, 5-летняя ВБП 63%. Auto-HSCT: the 5-year OS 88%, the 5-year PFS 75%. Allo-HSCT: the 5-year OS 63%, the 5-year PFS 63%.
H.B. Мякова, 2016 [19] N.V. Myakova, 2016 [19]	7	БВ BV	Общая частота ответов 85% Overall response rate: 85%
Л.Н. Шелихова, 2017 [20] L.N. Shelikhova, 2017 [20]	8	Кризотиниб Crizotinib	Общая частота ответов 100% Overall response rate: 100%
E. Bossi, 2020, NCT02419287 [21]	12	Кризотиниб Crizotinib	Общая частота ответов 83%, 2-летняя ОВ 66%, 2-летняя ВБП 65% Overall response rate: 83%, the 2-year OS: 66%, the 2-year PFS: 65%
M. Chen, 2020, ChiCTR2000029373 [22]	20	ХТ + кризотиниб Chemotherapy + crizotinib	Общая частота ответов 81%, 2-летняя ОВ 86%, 2-летняя ВБП 68% Overall response rate: 81%, the 2-year OS: 86%, the 2-year PFS: 68%
M. Fischer, 2021, NCT01742286 [23]	8	Церитиниб Ceritinib	Общая частота ответов 75% Overall response rate: 75%

ответом в 66–87,5% [18, 19]. У пациентов с ремиссией после использования БВ, получивших консолидацию с помощью ТГСК, 5-летняя ОВ составила 88% (ауто-ТГСК) и 63% (алло-ТГСК), 5-летняя ВБП – 63% (алло-ТГСК) и 75% (ауто-ТГСК) [18]. Появление кризотиниба повлияло на тактику лечения Р-Р ALK⁺ АККЛ. Кризотиниб является конкурентным ингибитором тирозинкиназ рецепторов ALK, MET и ROS1, который оказывает мощную противоопухолевую активность и индуцирует апоптоз в опухолевых клетках [24]. У исследователей Children's Oncology Group и НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева общий ответ на терапию кризотинибом составил 90–100% [20, 25]. У авторов из Китая частота ответа на терапию кризотинибом в сочетании с ХТ составила 81%, 2-летняя ОВ и ВБП – 86% и 68% соответственно [22]. Несмотря на то, что кризотиниб демонстрирует высокую частоту общего ответа, со временем к нему обычно развивается лекарственная устойчивость, что приводит к рецидиву заболевания [26, 27]. В этом случае возможно применение ингибиторов ALK следующего поколения. Церитиниб – высокоселективный ингибитор ALK второго поколения. В доклинических исследованиях было показано, что церитиниб ингибирует активность ALK приблизительно в 20 раз мощнее, чем кризотиниб, и обладает способностью проникать через гемато-энцефалический барьер [28]. В 2021 г. M. Fischer и

соавт. опубликовали данные, в которых показали, что частота ответа при использовании церитиниба составляет 75% [23]. Применение ингибиторов ALK и БВ в нашей работе сопровождалось достижением повторной ремиссии у 80% и 71% пациентов соответственно. Использование церитиниба привело к длительной ремиссии и, возможно, к излечению у 1 пациента. Учитывая в целом высокую вероятность развития резистентности к ингибиторам ALK, высокий риск рецидива после БВ, таргетная терапия должна применяться как подготовка к ТГСК, чтобы повысить эффективность проводимого лечения [18, 26, 27]. Дальнейшие успехи в лечении Р-Р ALK⁺ АККЛ могут быть связаны с развитием терапии на новых биологических принципах. Клетки ALK⁺ АККЛ могут экспрессировать белок PD-1/PD-L1. Это дает теоретическое обоснование для использования анти-PD-1/PD-L1 при данной патологии [29, 30]. Ведутся доклинические исследования в области вакцин с использованием ДНК ALK и химического соединения целастрола, активирующего апоптоз в клетках, экспрессирующих NPM-ALK [31, 32]. Особенностью нашей работы была значительная предлеченность пациентов (медиана линий терапии – 4). Несмотря на это, ОВ составила 90%, что соответствует мировым данным (5-летняя ОВ – 70–90%) [33]. На наш взгляд, это одно из наиболее

важных наблюдений, полученных в исследовании, так как позволяет предположить возможность излечения значительной части пациентов даже при использовании более 3 линий терапии, что отличает ALK⁺ АККЛ от большинства других НХЛ. Также было показано, что алло-ТГСК при ALK⁺ АККЛ может быть относительно эффективной у предлеченных пациентов. В нашем исследовании вторая ремиссия была достигнута в 67% случаев, что соответствует ранее опубликованным данным [15]. Долгосрочная ВБП после ауто-ТГСК оказалась относительно невысокой по сравнению с алло-ТГСК (35% vs 60%). Эти результаты не противоречат опыту других исследователей [15]. Тем не менее, мы считаем, что ауто-ТГСК может рассматриваться для консолидации ремиссии, так как показатели ОВ в обеих группах сопоставимы (ауто-ТГСК vs алло-ТГСК – 100% vs 85% соответственно). Более того, ауто-ТГСК может рассматриваться при отсутствии полностью совместимого донора, т. е. при наличии только альтернативного донора (гаплоидентичного и частично совместимого), так как данных по применению гаплоидентичной ТГСК (гапло-ТГСК) при АККЛ недостаточно. Показано, что гапло-ТГСК может применяться как терапевтическая опция при АККЛ [34]. Это направление представляет интерес для дальнейшего изучения. Принципиально важным аспектом, отраженным в представленной работе, по нашему мнению, является демонстрация возможности проведения немиелоаблативного РК перед алло-ТГСК (FluBenda) у пациентов с Р-Р ALK⁺ АККЛ и его сопоставимая эффективность с миелоаблативными РК в сравнении с историческим контролем [15]. В нашей работе было показано, что статус перед ТГСК оказывал статистически значимое влияние на

ВБП (лучший прогноз в случае полной ремиссии). В то же время другие факторы не оказывали влияния на прогноз. Вероятно, это связано с относительно небольшим числом пациентов, включенных в исследование.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Р-Р ALK⁺ АККЛ является заболеванием с относительно благоприятным прогнозом даже у значительно предлеченных пациентов. Таргетная терапия – это важный и эффективный способ подготовки к ТГСК. Алло-ТГСК обладает большей эффективностью по сравнению с ауто-ТГСК, однако последняя также может рассматриваться как возможная опция терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

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

Lepik E.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9613-5772>

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lepik K.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4056-050X>

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

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

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

Литература

- Wright D., McKeever P., Carter R. Childhood non-Hodgkin lymphomas in the United Kingdom: Findings from the UK Children's Cancer Study Group. *J Clin Pathol* 1997; 50: 128–34. DOI: 10.1136/jcp.50.2.128
- Stein H., Foss H.D., Dürkop H., Marafioti T., Delsol G., Pulford K., et al. CD30 (+) anaplastic large-cell lymphoma: review of its histopathologic genetic and clinical features. *Blood* 2000; 96 (12): 3681–95.
- Lowe E.J., Gross T.G. Anaplastic Large Cell Lymphoma in Children and Adolescents. *Pediatric Hematology and Oncology* 2013; 30 (6): 509–19. DOI: 10.3109/08880018.2013.805347
- Левашов А.С., Валиев Т.Т., Ковригина А.М., Попа А.В., Менткевич Г.Л. Современные аспекты диагностики и лечения анапластической крупноклеточной лимфомы у детей (обзор литературы). *Клиническая онкогематология* 2016; 9 (2): 199–207. DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-2-199-207
- 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; 11 (4): 25–31. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-4-25-31
- Валиев Т.Т., Ковригина А.М., Ключагина Ю.И., Сендерович А.И. Опыт цитогенетических исследований при неходжкинских лимфомах у детей. *Онкопедиатрия* 2016; 3 (2): 125–32. DOI: 10.15690/onco.v3i2.1547
- Piccaluga P.P., Gazzola A., Mannu C., Agostinelli C., Bacci F., Sabattini E., et al. Pathobiology of Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Adv Hematol* 2010; 2010:345053. DOI: 10.1155/2010/345053
- Damm-Welk C., Mussolin L. Early assessment of minimal residual disease identifies patients at very high relapse risk in NPM-ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2013; 123 (3): 334–7. DOI: 10.1182/blood.2013-09-526202
- Abramov D., Oschlies I., Zimmermann M., Kononov D., Damm-Welk C., Wossmann W., et al. Expression of CD8 is associated with non-common type morphology and outcome in pediatric anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma. *Haematologica* 2013; 98 (10): 1547–53. DOI: 10.3324/haematol.2013.085837

10. Woessmann W., Zimmermann M., Lenhard M., Burkhardt B., Ros-sig C., Kremens B., et al. Relapsed or Refractory Anaplastic Large-Cell Lymphoma in Children and Adolescents After Berlin–Frankfurt–Muenster (BFM)–Type First-Line Therapy: A BFM-Group Study. *J Clin Oncol* 2011; 29 (22): 3065–71. DOI: 10.1200/jco.2011.34.8417
11. Khoury J.D., Medeiros L.J., Rassidakis G.Z., Yared M.A., Tsioli P., Leventaki V., et al. Differential expression and clinical significance of tyrosine-phosphorylated STAT3 in ALK⁺ and ALK-anaplastic large cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9 (10 Pt 1): 3692–9.
12. Haggood G., Savage K.J. The biology and management of systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2015; 126 (1): 17–25. DOI: 10.1182/blood-2014-10-567461
13. Strullu M., Thomas C., Raus N., Pail-lard C., Bertrand Y., Jubert C., et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation In Relapsed ALK⁺ Anaplastic Large Cell Lymphoma Of Children and adolescent : A Study On Behalf Of The Sfce and SFGM-TC. *Blood* 2013; 122 (21): 2120. DOI: 10.1182/blood.V122.21.2120.2120
14. Prokoph N., Larose H., Lim M., Burke G., Turner S. Treatment Options for Paediatric Anaplastic Large Cell Lymphoma (ALCL): Current Standard and beyond. *Cancers* 2018; 10 (4): 99. DOI: 10.3390/cancers10040099
15. Knörr F., Brugières L., Pillon M., Zimmermann M., Ruf S., Attarbaschi A., et al. Stem Cell Transplantation and Vinblastine Monotherapy for Relapsed Pediatric Anaplastic Large Cell Lymphoma: Results of the International, Prospective ALCL-Relapse Trial. *J Clin Oncol* 2020; 38 (34): 3999–4009. DOI: JCO.20.00157. doi:10.1200/jco.20.00157
16. Woessmann W., Peters C., Lenhard M., Burkhardt B., Sykora K., Dilloo D., et al. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in relapsed or refractory anaplastic large cell lymphoma of children and adolescents – a Berlin–Frankfurt–Munster group report. *Br J Haematol* 2006; 133 (2): 176–82. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2006.06004.x
17. Cheson B.D., Fisher R.I., Barrington S.F., Cavalli F., Schwartz L.H., Zucca E., et al. Recommendations for Initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol* 2014; 32 (27): 3059–68.
18. Pro B., Advani R., Brice P., Bartlett N.L., Rosenblatt J.D., Illidge T., et al. Five-year results of brentuximab vedotin in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2017; 130 (25): 2709–17. DOI: 10.1182/blood-2017-05-780049
19. Мякова Н.В., Евстратов Д.А., Абрамов Д.С., Коновалов Д.М., Пшонкин А.В., Литвинов Д.В. Применение брентуксимаба ведотина у детей и подростков с лимфомой Ходжкина и анапластической крупноклеточной лимфомой – обзор литературы и собственные наблюдения. *Онкогематология* 2016; 11 (1): 8–13. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-08-13
20. Шелихова Л.Н., Фоминых В.В., Абрамов Д.С., Мякова Н.В., Масчан М.А., Масчан А.А. Применение кризотиниба при рефрактерных формах ALK-позитивных лимфом. *Терапевтический архив* 2017; 89 (7): 51–6. DOI: 10.17116/terarkh201789751-56
21. Bossi E., Aroldi A., Brioschi F.A., Steidl C., Baretta S., Renso R., et al. Phase two study of crizotinib in patients with anaplastic lymphoma kinase (ALK) positive anaplastic large cell lymphoma relapsed/refractory to chemotherapy. *Am J Hematol* 2020; 1–3. DOI: 10.1002/ajh.25967
22. Chen M., Fu X., Huang H., Wang Z., Fang X., Yao Y.Y., et al. Combination of crizotinib and chemotherapy in patients with relapsed or refractory anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive anaplastic large cell lymphoma (ALCL). *Leuk Lymphoma* 2020; 62 (3): 571–80. DOI: 10.1080/10428194.2020.1839658
23. Fischer M., Moreno L. Ceritinib in paediatric patients with anaplastic lymphoma kinase-positive malignancies: an open-label, multicentre, phase 1, dose-escalation and dose-expansion study. *Lancet Oncol* 2021; 22 (12): 1764–76. DOI: 10.1016/S1470-2045
24. Sahu A., Prabhash K., Noronha V., Joshi A., Desai S. Crizotinib: A comprehensive review. *South Asian J Cancer* 2013; 2 (2): 91–7. DOI: 10.4103/2278-330X.110506
25. Mossé Y.P., Voss S.D., Lim M.S., Roland D., Minard C.G., Fox E., et al. Targeting ALK With Crizotinib in Pediatric Anaplastic Large Cell Lymphoma and Inflammatory Myofibroblastic Tumor: A Children's Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2017; 35 (28): 3215–21. DOI: 10.1200/jco.2017.73.4830
26. Shaw A.T., Friboulet L., Leshchiner I., Gainor J.F., Bergqvist S., Brooun A., et al. Resensitization to Crizotinib by the Lorlatinib ALK Resistance Mutation L1198F. *N Engl J Med* 2016; 374 (1): 54–61. DOI: 10.1056/nejmoa1508887
27. Wilson F.H., Johannessen C.M., Piccioni F., Tamayo P., Kim J.W., Van Allen E.M., et al. A Functional Landscape of Resistance to ALK Inhibition in Lung Cancer. *Cancer Cell* 2015; 27 (3): 397–408. DOI: 10.1016/j.ccell.2015.02.005
28. Santarpia M., Daffinà M.G., D'Aveni A., Marabello G., Liguori A., Giovannetti E., et al. Spotlight on ceritinib in the treatment of ALK⁺ NSCLC: design, development and place in therapy. *Drug Des Devel Ther* 2017; 11: 2047–63. DOI: 10.2147/dddt.s113500
29. Yamamoto R., Nishikori M., Tashima M., Sakai T., Ichinohe T., Takatori-Kondo A., et al. B7-H1 expression is regulated by MEK/ERK signaling pathway in anaplastic large cell lymphoma and Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci* 2009; 100 (11): 2093–100. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01302.x
30. Marzec M., Zhang Q., Goradia A., Raghunath P.N., Liu X., Paessler M., et al. Oncogenic kinase NPM/ALK induces through STAT3 expression of immunosuppressive protein CD274 (PD-L1, B7-H1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105 (52): 20852–7. DOI: 10.1073/pnas.0810958105
31. Kuravi S., Parrott E., Ganguly S., Vallurupalli A., Sauntharajah Y., Blagg B., et al. CDC37 As a Novel Target for the Treatment of NPM1-ALK Expressing Anaplastic Large Cell Lymphomas. *Blood* 2017; 130 (1): 2758. DOI: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.2758.2758
32. Merkel O., Hamacher F., Sifft E., Kenner L., Greil R. Novel therapeutic options in anaplastic large cell lymphoma: molecular targets and immunological tools. *Mol Cancer Ther* 2011; 10 (7): 1127–36. DOI: 10.1158/1535-7163.mct-11-0042
33. Абрамов Д.С., Мякова Н.В. ALK-позитивная анапластическая крупноклеточная лимфома: диагностика, клинические проявления, лечение. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2015; 14 (2): 12–9. DOI: 10.24287/1726-1708-2015-14-2-12-19
34. Zhenyang G., Nainong L., Xiaoxiong W., Maihong W., Xiaorui F., Zhao W., et al. Myeloablative Haploidentical Transplant as an Alternative to Matched Sibling Transplant for Peripheral T-Cell Lymphomas. *Cell Transplant* 2021; 30: 963689721999615. DOI:10.1177/0963689721999615

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 18.11.2022
Принята к печати 13.01.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-32-38

Определение минимальной диссеминированной болезни в костном мозге методом секвенирования нового поколения у детей с лимфомой Беркитта

Е.В. Волчков^{1, 3}, Ю.Г. Аbugова¹, И.З. Мамедов², Д.С. Абрамов¹, М.А. Сенченко¹,
Л.Х. Андержанова¹, А.Ю. Комков², В.В. Фоминых¹, Ю.В. Олышанская¹, Н.В. Мякова¹,
Г.А. Новичкова¹

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

²ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

³Научно-исследовательский институт молекулярной и клеточной медицины
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва

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

Эффективность терапии детей с лимфомой Беркитта достигла 85–90% с применением современных риск-адаптированных схем лечения, в основе которых лежит разделение пациентов на группы риска по стадии и степени распространенности опухолевого процесса. Для оценки поражения костного мозга традиционно используют подсчет миелограммы из нескольких точек с поиском опухолевых клеток. Однако для более точного выявления прогностически значимой минимальной диссеминированной болезни (МДБ) нужны высокочувствительные молекулярно-генетические методы. В настоящей работе мы использовали секвенирование нового поколения в целях выявления специфических для опухолевых клонов перестроек генов иммуноглобулинов, что может быть использовано в качестве маркера для оценки МДБ у детей с В-клеточными неходжкинскими лимфомами. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Мы показали, что данный метод позволяет детектировать поражение костного мозга на уровне до 10^{-6} у пациентов с лимфомой Беркитта, у которых анализ миелограммы стандартным морфологическим методом не показал наличие опухолевых клеток. Выявление молекулярной МДБ позволяет уточнить стадирование и улучшить стратификацию на группы риска у детей с В-клеточными неходжкинскими лимфомами.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, секвенирование нового поколения, V(D)J-рекомбинация, лимфома Беркитта

Волчков Е.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 32–8.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-32-38

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 18.11.2022
Accepted 13.01.2023

The evaluation of minimal disseminated disease in the bone marrow of children with Burkitt lymphoma using next generation sequencing

E.V. Volchkov^{1, 3}, Yu.G. Abugova¹, I.Z. Mamedov², D.S. Abramov¹, M.A. Senchenko¹, L.Kh. Anderzhanova¹,
A.Yu. Komkov², V.V. Fominykh¹, Yu.V. Olshanskaya¹, N.V. Myakova¹, 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 Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow

³The Research Institute of Molecular and Cellular Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

The effectiveness of treatment for children with B-cell non-Hodgkin lymphomas (B-NHL) has reached 85–90% after the introduction of modern risk-adapted treatment regimens that involve risk group stratification based on tumor stage. Bone marrow involvement is traditionally evaluated using quantitative morphological analysis of tumor cells which has, however, a lower sensitivity compared to molecular genetic methods. In our study, we used next generation sequencing (NGS) to identify tumor-specific V(D)J-rearrangements of immunoglobulin genes which can be used as a marker for the evaluation of minimal disseminated disease (MDD) in children with B-NHL. 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. Here we demonstrated that NGS allows detection of bone marrow involvement at a sensitivity of 10^{-6} in patients with Burkitt lymphoma, in whom standard morphological analysis failed to reveal the presence of tumor cells. The detection of molecular MDD can improve tumor staging and risk stratification in children with B-cell non-Hodgkin lymphomas.

Key words: non-Hodgkin lymphomas, next generation sequencing, V(D)J-recombination, Burkitt lymphoma

Volchkov E.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 32–8.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-32-38

Correspondence:

Egor V. Volchkov,
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

Согласно критериям 5-й версии классификации Всемирной организации здравоохранения, лимфома Беркитта (ЛБ) определяется как агрессивное новообразование, состоящее из клеток среднего размера с фенотипом герминальных В-клеток и реаранжировкой гена *c-MYC* [1]. Данный вариант лимфомы является самым частым среди всех подтипов В-клеточных неходжкинских лимфом (В-НХЛ) у детей. Примерно в 20% случаев ЛБ отмечается морфологическое поражение костного мозга [2]. При применении современных риск-адаптированных протоколов терапии удается добиться общей и бессобытийной выживаемости в 90% случаев. При этом рецидивы и прогрессия заболевания являются основными причинами неудач терапии, так как выведение рефрактерных пациентов во вторую ремиссию практически невозможно [2]. Основой для современных протоколов лечения являются стратификация пациентов на группы риска и применение интенсивной химио-иммунотерапии блоками с последующей оценкой ответа опухоли и необходимости интенсифицировать терапию. Основой для разделения на группы риска являются оценка степени распространенности опухолевого процесса (система стадирования по St. Jude) и уровень лактатдегидрогеназы [3, 4]. При этом именно среди пациентов 3-й и 4-й групп риска наблюдается большинство неудач терапии [5]. В случае поражения костного мозга всегда выставляется IV стадия заболевания.

Для выявления поражения костного мозга традиционно проводят морфологическую оценку аспирата из 3–4 точек с подсчетом клеток с бластной морфологией. Такой метод имеет ряд ограничений, главным из которых является низкая разрешающая способность, не позволяющая обнаруживать опухолевые клетки на уровне менее нескольких процентов от нормальных значений. Однако для уточнения минимальной диссеминированной болезни (МДБ), которая имеет прогностическое значение при продвинутых стадиях заболевания, необходимо обнаружение опухолевой популяции на более низком уровне. При этом использование проточной цитометрии, применяемой для этих целей в случае острых лейкозов, может быть затруднено ввиду отсутствия специфических маркеров, которые позволили бы достоверно разделить опухолевую и нормальную популяции клеток.

Значительный прогресс в развитии технологий, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР), и в первую очередь секвенирования нового поколения (NGS), существенно расширили наши возможности по поиску специфических маркеров, которые могут быть использованы для выявления опухолевой клеточной популяции с большей чувствительностью и специфичностью, чем позволяют стандартные

методы исследования. В настоящей работе мы дадим краткую характеристику основным подходам, которые могут быть использованы для этих целей, а также приведем собственные результаты по детекции МДБ путем выявления специфических реаранжировок генов иммуноглобулинов (IGs) методом NGS. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Полимеразная цепная реакция длинных фрагментов

ЛБ отличает перестройка гена *c-MYC* с одной из цепей IG. Чаще всего происходит транслокация с тяжелой цепью IG (IGH) с образованием химерного гена *c-MYC::IGH* (8;14)(q24;q32), но возможна также и перестройка с одним из локусов легких цепей каппы (IGK) или ламбды (IGL) – t(2;8)(p11;q21) и t(8;22)(q24;q11.2) соответственно [6]. Данные реаранжировки можно использовать в качестве опухолевых маркеров.

Для детекции специфических перестроек чаще всего используют ПЦР в режиме реального времени, где по приросту флуоресценции при каждом новом цикле ПЦР можно судить о количестве исходных молекул путем нормализации и соотношения с референсными значениями. Данная технология не может быть применена для детекции *c-MYC*-перестроек, так как точка разрыва в обоих перестраиваемых генах может существенно меняться от образца к образцу, а главное они разнесены в пространстве генома и в результате не образуется единая матричная РНК (мРНК) с обоих генов, что заставляет синтезировать цепь ДНК длиной до нескольких тысяч нуклеотидов. Для этих целей, по данным ряда авторов, предлагается использовать ПЦР длинных фрагментов, которая позволяет синтезировать фрагменты достаточной длины [7, 8]. Суть метода заключается в использовании в параллельных реакциях ПЦР разных пар праймеров на экзоны *c-MYC* и локусы IGH. Дальше проводится визуальная оценка наличия ПЦР-продукта с помощью электрофореза.

Однако у данного метода есть ряд ограничений, главными из которых являются отсутствие информации по его использованию при t(2;8)(p11;q21) и t(8;22)(q24;q11.2), невозможность количественной оценки, трудоемкость при подборе оптимальной комбинации праймеров и сильный разброс чувствительности от образца к образцу [8, 9].

Секвенирование нового поколения

Основным преимуществом технологии NGS перед стандартной ПЦР является возможность массированного параллельного секвенирования многих молекул ДНК в одной проточной ячейке секвенатора

[10]. В настоящее время NGS позволяет детектировать специфические для опухоли перестройки IGs и выявлять различные мутации, полиморфизмы (SNVs), изменения числа копий (CNVs) и инделы (делеции или вставки различной протяженности) [11].

В процессе нормального созревания В-лимфоцитов поэтапно происходит реаранжировка генов IGh и легких (V(D)J) цепей IGs, соматическая гипермутация (СГМ) и переключение классов IGs, что и обуславливает все антигенное разнообразие В-клеток у человека [12]. ЛБ, как и все остальные злокачественные опухоли, является клональным заболеванием, в результате чего все опухолевые клетки с некоторыми оговорками несут уникальную последовательность CDR3, которая образуется в результате всех этапов «созревания» IGh и легких цепей IGs и которая в норме отвечает за связь с антигеном [12]. В настоящее время имеется лишь одна одобренная для клинического использования система для детекции перестроек IGs на основе NGS – clonoSEQ (США) [13]. Главным достоинством этого метода является высокая чувствительность (до 0,005%), однако низкая доступность данного набора в России, определенные трудности в первичной идентификации V(D)J-перестройки в опухоли, возможность одновременного анализа только одной мишени и сложности в анализе полученных данных ограничивают распространение данной методики. В нашей работе мы продемонстрировали результаты собственного подхода для детекции клональных перестроек при ЛБ, который дает аналогичную с clonoSEQ эффективность, а также лишен недостатков данной технологии.

Помимо анализа клональных перестроек IGs можно исследовать и другие опухоль-специфические маркеры. Как известно, практически все новообразования имеют в той или иной степени генетическую нестабильность, в результате которой в процессе клональной эволюции происходит накопление генетических событий, их определение позволяет отделить опухолевую популяцию от условно нормальных клеток в исследуемом образце. Наиболее полные генетические данные удастся получить в результате полногеномного или полноэкзомного секвенирования, при которых изучается последовательность всего генома или белок-кодирующие последовательности генов. Помимо всех достоинств данных методов низкая чувствительность (зависит от глубины секвенирования) и высокая стоимость ограничивают их применение в клинической практике. Использование таргетного NGS с изучением только заранее заданных регионов существенно уменьшает затраты на секвенирование, а также повышает чувствительность данной технологии до 0,01–0,001%. Данный подход с успехом применяется для различных онко-

гематологических заболеваний, особенно когда в силу биологии опухоли невозможно провести анализ клональных перестроек IGs [14, 15]. Также существуют различные модификации данной технологии как на уровне пробоподготовки, так и на уровне биоинформационного анализа, целью которых является снижение количества ошибок секвенирования и повышение чувствительности. К подобным технологиям относят дуплексное секвенирование, где детекция варианта происходит сразу по двум цепям ДНК, детекцию сочетанных вариантов («фазированные варианты» – PhasED-секвенирование) и др. [16, 17]. Учитывая возможность секвенирования генов IGs в контексте изучения В-НХЛ, данные технологии нашли применение в методах малоинвазивной биопсии при данных заболеваниях. Более подробно эти технологии описаны в обзоре E. Lauer и соавт. [18].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В пилотное исследование по определению МДБ были включены 10 детей с установленным диагнозом ЛБ в возрасте от 1 до 14 лет (медиана возраста 5,5 года) без поражения костного мозга по данным стандартной морфологии и проходивших лечение в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 2018 по 2021 г. Все пациенты были включены в протокол В-НХЛ2010маб и были стратифицированы согласно его критериям. Характеристика пациентов представлена в *таблице 1*.

ДНК для генетического анализа выделялась из парафиновых FFPE-блоков с помощью набора GeneRead DNA FFPE Kit (Qiagen, Германия). Определение МДБ методом NGS выполнялось в 2 этапа. На первом этапе определялся клональный репертуар перестроек IGs в опухолевом образце, полученном после биопсии и установления диагноза. Библиотеки для определения клонального репертуара готовились путем 2 раундов ПЦР. В первом раунде проводилось 5 параллельных мультиплексных ПЦР для каждого образца с использованием набора праймеров к V-, D-, J-локусам цепи IGh (3 мультиплексных ПЦР с праймерами к сегментам FR1, FR2 и FR3 цепи IGh) и по одной мультиплексной ПЦР с праймерами к V- и J-сегментам легких цепей IGL. В каждой реакции использовалось по 40 нг геномной ДНК. В ходе второго раунда ПЦР происходило присоединение индексов i7 и i5, содержащих адаптерные последовательности. Продукты ПЦР очищались на магнитных частицах. Секвенирование библиотек проводилось на секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Полученные после секвенирования и демультиплексирования файлы анализировались с помощью веб-платформы Galaxy (<https://usegalaxy.org>) и программы IgBLAST

Таблица 1
Характеристика пациентов с ЛБ, включенных в исследование

Table 1
The characteristics of the study patients with Burkitt lymphoma (BL)

Пациент Patient	Пол Gender	Возраст, годы Age, years	Регионы поражения Involvement	Стадия Stage	Группа риска Risk Group
№1	Женский Female	14	Лимфатические узлы шеи, пазух носа, основания черепа, глазницы, миндалины, плевры, яичников, брюшной стенки Lymph nodes of the neck, nasal sinuses, the base of the skull, orbits, tonsils, the pleura, ovaries, the abdominal wall	III	3
№2	Мужской Male	2	Почки Kidneys	IINR	2
№3	Мужской Male	3	Брюшная полость Abdominal cavity	IINR	2
№4	Женский Female	3	Яичники, матка, брюшина Ovaries, uterus, peritoneum	III	3
№5	Мужской Male	8	Носоглотка Nasopharynx	IINR	2
№6	Женский Female	4	Лимфатические узлы шеи, миндалины Cervical lymph nodes, tonsils	IINR	2
№7	Мужской Male	7	Брюшная полость, печень, поджелудочная железа, надпочечник, щитовидная железа Abdominal cavity, liver, pancreas, an adrenal gland, the thyroid gland	III	3
№8	Мужской Male	14	Полость носа, верхнечелюстная пазуха, глазница, решетчатая кость, легкие, кости скелета Nasal cavity, a maxillary sinus, an orbit, the ethmoid bone, lungs, bones	IV	3
№9	Мужской Male	10	Брюшная полость Abdominal cavity	IINR	2
№10	Мужской Male	1	Брюшная полость, почки, брюшина Abdominal cavity, kidneys, peritoneum	III	3

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast>). В качестве опухолевых рассматривались клоны, которых в процентном соотношении было больше 5% всех детектированных. В ходе второго этапа проводилось непосредственное определение МДБ. Подготовка библиотеки осуществлялась путем 2 раундов ПЦР. В первом раунде выполнялась постановка 32 параллельных реакций ПЦР по методу серийных разведений вносимой ДНК с праймерами к локусам генов IGs, обнаруженных на данном этапе у опухолевых клонов. Так, 16 реакций ПЦР выполнялось с внесением около 300 нг геномной ДНК на реакцию, 8 реакций – с 30 нг и еще 8 – с 3 нг, что примерно соответствует ДНК, выделенной от 50 000, 5000 и 500 клеток на реакцию соответственно. В ходе второго раунда выполнялось уникальное индексирование каждой отдельной реакции ПЦР, после чего также проводилась отмычка получившейся библиотеки на магнитных частицах. Таким образом, на каждый образец было подготовлено по 32 отдельных библиотеки. Секвенирование библиотек также проводилось на секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Суммарная глубина прочтения составила 1 млн ридов на образец. После секвенирования проводилось демультимплексирование по уникальным парам индексов. Таким образом, риды от каждой из 32 отдельных ПЦР были отделены друг от друга. В дальнейшем с помощью самостоятельно разработанного пайплайна проводился поиск опухолевой последовательности CDR3 среди каждой из 32 библиотек в образце. В случае детекции опухолевой последовательности в какой-либо из библиотек проводился

математический подсчет содержания опухолевой популяции в образце на основе количества загружаемой ДНК на реакцию и общего количества реакций, в которых были обнаружены опухолевые клоны. Учитывая, что количество загружаемой ДНК для каждого образца составляло порядка 850 000 клеток, то диапазон чувствительности данной системы составляет от 0,0001% (10^{-6}) до 0,2% (10^{-3}).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследования был проведен анализ клонального репертуара в опухолевых образцах, результаты представлены в *таблице 2*.

После определения клонального репертуара в опухолевых образцах последовательность CDR3, уникальная для опухолевых клонов, использовалась для поиска опухолевой популяции в образцах костного мозга. Среди 10 обследованных пациентов у 4 удалось выявить опухолевую популяцию на уровне от 0,0001 до 0,007%. Результаты определения МДБ представлены в *таблице 3* (нумерация клонов соответствует *таблице 2*).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе настоящей работы мы применили кастомную NGS-систему детекции клональных перестроек генов IGs у детей с ЛБ, которая до этого была успешно применена нами при остром лимфобластном лейкозе [19]. Определенные таким образом уникальные нуклеотидные последовательности

Таблица 2

Определение клонального репертуара в опухолевых образцах

Table 2

Clonal repertoire analysis in the tumor samples

Пациент Patient	Цепь IG IG chain	V-локус* V locus*	J-локус J locus	Нуклеотидная последовательность CDR3 CDR3 nucleotide sequence
№1	IGH	V4	J3	AGACAGAGCGCTGCCTGGCGGGCTGAACACC
	IGH	V4	J4	AGAGTCAAAGACGTGAGTCTCCGGACGATAACCTGC
	IGK	V3	J4	AGTGAGGAGGTGAGCTACCATCTGCTG
	IGK	V5	J1	CGTCCCCCTAAGAGGGAAATTATCATGTTGTAG
№2	IGH	V3	J6	GACGTCCATACCGTAGTCCGAAAAATATCGTAATCTGATAGGGCCATGTATTTCGC
	IGH	V2	J5	GGGGTCGAACAGGTTTCATCTCCCGCGGGTGACCTGTACCAGCCACTGCCACTTCGCGTAC
	IGL	V1	J4	CACCCAGCACTCAGGCTGCTATCCACGTTCC
	IGK	V1	J3	AGTGAGGGCACTGTTATATCTTTG
№3	IGH	V4	J6	GACGTCCATACCGTAGTAGTAGAGTCGGGGGCAATTACCACCACTGCAATAGAGAACGGGAATCTCGC
	IGH	V3	J4-5	GTATTCAAACGTATACACAGTTGTAGCCAGGCTGTGCGACGTGTCGT
	IGH	V3	J4-5	GTATTCAAACGTAGGCACAGTTGTAGCCAGGCTGTGCGACGTGTCGT
	IGL	V3	J2-3	TATCATATGATCACTGCTACTATCCACACCTG
№4	IGH	V3	J4	GCAAGAGATTTCAGGATGGGTAGTGGGAGCCATTACTACTTTTGACTAC
	IGK	V1	J2	AGTACTCGAGGGGGGTACTGTAACCTCTGTTG
	IGL	V1	J7	CACAACAGCACTCAGGTTGCTATCCCATGTTCC
№5	IGH	V2	J6	GGACGGATATATATCGGAGCAGATGGGACGAACCTACGGTATGGACGTC
№6	IGH	D3	J1-2	CTTACCTGAGGAGACGGTGCCC
№7	IGH	V1	J6	CTGAGATCTGAAGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGAGTAGTCAACCTCCTTAGCAGAACTGGGGACC
	IGH	V1	J6	ACACCACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAA
				CTGAGATTGAAGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGAGTAGTCAACCTCCTTAGCAGAACTGGGGACC
№8	IGH	V3	J6	ACACCACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAA
				CTGAGATCTGAAGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGAGTAGTCAACCTCCTTAGCAGAACTGGGGACC
	IGK	V1	J1	ACACCGCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAA
				CTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTTTACTGCGCGCAACCGGTATAAAGTGAACCTACGGGGTACTACG
№9	IGH	V3	J6	GTCTGGACGTCTGGGGCCAA
				CTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTTTACTGCGCGCAACCGGTATAAAGTGAACCTACGGGGTACTACG
	IGL	V3	J1	GTCTGGACGTCTGGGGCCAA
				GTCCAGGCAGAACGAGGCTGACTATTCTGTCAATCAGCAGACAGTGGTAGTTATGTCTTCGGAAC
№10	IGH	V4	J4	TGGGACCGAGCTGAC
				CCAGTAGTCAATGTTAGAGCAGTACCACCACAATATGCTCAGTGACACGAACCCCAAAAATCCTCC
	IGH	V3	J6	TGTCCTACAGGAGA

Примечание. * – в случаях с неполными перестройками (DJ-рекомбинация IGH) V-сегмент отсутствует, таким образом указывается D-сегмент.
Notes. * – since the V-segment is absent in cases of incomplete rearrangements (IGH DJ recombination), the D-segment was specified.

Таблица 3

Результаты определения МДБ

Table 3

The results of the minimal disseminated disease (MDD) analysis

Пациент Patient	Стадия Stage	Группа риска Risk Group	Клон, № Clone, №	Уровень МДБ, % MDD, %
№1	III	3	1	0,001
			2	0,0007
			3	0
			4	0
№2	IINR	2	1	0
			2	0
			3	0
			4	0
№3	IINR	2	1	0
			2	0
			3	0
			4	0
№4	III	3	1	0
			2	0
			3	0
№5	IINR	2	1	0
№6	IINR	2	1	0
№7	III	3	1	0
			2	0
			3	0
№8	IV	3	1	0
			2	0
			3	0,007
			4	0
№9	IINR	2	1	0,0001
			2	0
№10	III	3	1	0,0011

участка CDR3 могут быть использованы в качестве опухолевых маркеров для детекции МДБ. Данная система позволяет обнаруживать как полные, так и неполные перестройки, что является критичным при изучении клонального репертуара по реаранжировкам генов IGs. Так, среди исследуемой когорты неполные перестройки были обнаружены у 2 пациентов, у одного из которых по данному клону была детектирована МДБ в костном мозге. Полученные результаты убедительно показывают, что отсутствие опухолевых клеток у больных ЛБ в костном мозге по данным морфологического исследования не означает отсутствие поражения костного мозга. Это объясняется значительно большей чувствительностью метода NGS и возможностью выявлять опухолевую популяцию на уровне 1 клетки на почти 1 млн нормальных, что недоступно никакому другому из существующих на сегодняшний день методов исследования. Возможность с большей точностью выявить минимальное опухолевое поражение костного мозга позволяет вносить этот показатель в определение стадии заболевания и группы риска, что может быть использовано в будущих протоколах для более ранней интенсификации терапии у пациентов с МДБ. В нашем исследовании не была выявлена какая-либо

связь между наличием МДБ и исходом терапии, но надо отметить, что группа малочисленна и все эти пациенты получили интенсивное лечение по высокой группе риска.

Другим востребованным применением данной технологии является определение так называемой минимальной остаточной болезни, когда оценивается ответ на проводимое лечение. Данный метод может быть особенно полезным в случаях с инициальным поражением костного мозга, так как кроме NGS не существует оптимального метода детекции остаточной опухолевой популяции в костном мозге у пациентов с ЛБ с необходимым для этого уровнем чувствительности. Персистенция МДБ после терапии индукции является неблагоприятным прогностическим фактором.

Как и у всех методов при применении NGS для определения МДБ могут быть свои ограничения. Так, при данной технологии необходима первичная детекция клональных перестроек в образце, который должен содержать достаточное количество опухолевых клеток для надежного разграничения опухолевой популяции и реактивного иммунного окружения. При этом, учитывая преимущественное использование FFPE-блоков для этих целей, возникает сложность в получении надлежащего качества геномной ДНК, способной вступить в ПЦР. Высокая чувствительность в определении МДБ напрямую зависит от количества загружаемого материала (более 5 мкг на 1 образец), что также может быть затруднено в случае гипоклеточного костного мозга. Другой возможной проблемой, уже биологического характера, может быть СГМ, которая в норме происходит на уровне В-лимфоцитов герминального центра. СГМ может привести к изменению нуклеотидной последовательности CDR3 уже после

первичной детекции в процессе клональной эволюции опухоли, что делает ранее обнаруженные маркеры бесполезными для мониторинга МДБ и минимальной остаточной болезни. Такой эффект был описан для фолликулярной и диффузной В-крупноклеточной лимфом примерно в 20% случаев [20, 21]. В отношении ЛБ нет данных о возникновении СГМ в CDR3, что может быть объяснено тем, что ЛБ происходит из ранних В-клеток герминального центра лимфатического фолликула до возникновения гипермутации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя все выше сказанное, можно сделать вывод, что определение клональных перестроек генов IGs методом NGS представляется оптимальным методом для определения МДБ и может быть использовано в качестве диагностического инструмента для определения стадии заболевания, а также для выявления остаточной опухолевой популяции в исследуемом образце.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено при финансовой поддержке фонда «Наука – детям».

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>

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

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

Литература

1. 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
2. Mbulaiteye M., Biggar J., Bhatia K., Linet M.S., Devesa S.S. Sporadic childhood Burkitt lymphoma incidence in the United States during 1992–2005. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53: 366–70. DOI: 10.1002/pbc.22047
3. Reiter A., Schrappe M., Tiemann M., Ludwig W.D., Yakisan E., Zimmermann M. et al. Improved treatment results in childhood B-cell neoplasms with tailored intensification of therapy: a report of the Berlin–Frankfurt–Münster Group Trial NHL-BFM 90. *Blood* 1999; 94: 3294–306.
4. Murphy S.B. Classification, staging and end results of treatment of childhood non-Hodgkin's lymphomas: dissimilarities from lymphomas in adults. *Semin Oncol* 1980; 7: 332–9.
5. Maschan A., Myakova N., Aleinikova O., Abugova Y., Ponomareva N., Belogurova M. et al. Rituximab and

- reduced-intensity chemotherapy in children and adolescents with mature B-cell lymphoma: interim results for 231 patients enrolled in the second Russian-Belorussian multicentre study B-NHL-2010M. *Br J Haematol* 2019; 186 (3): 477–83. DOI: 10.1111/bjh.15944
6. Burmeister T., Schwartz S., Horst A., Rieder H., Gökbuget N., Hoelzer D. et al. Molecular heterogeneity of sporadic adult Burkitt-type leukemia/lymphoma as revealed by PCR and cytogenetics: correlation with morphology, immunology and clinical features. *Leukemia* 2005; 19: 1391–8. DOI: 10.1038/sj.leu.2403847
 7. Mussolin L., Basso K., Pillon M., D'Amore E.S., Lombardi A., Luzzatto L., et al. Prospective analysis of minimal bone marrow infiltration in pediatric Burkitt's lymphomas by long-distance polymerase chain reaction for t(8;14)(q24;q32). *Leukemia* 2003; 17 (3): 585–9. DOI: 10.1038/sj.leu.2402828
 8. Лавриненко В.А., Волочник Е.В., Фёдорова А.С., Алейникова О.В. Первичная диагностика и оценка минимальной диссеминированной и минимальной остаточной болезни путем определения перестройки с-MYC-IgH с помощью полимеразной цепной реакции длинных фрагментов при лимфоме/лейкозе Беркитта. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016; 15 (4): 66–73. DOI: 10.20953/1726-1708-2016-4-66-73
 9. Mussolin L., Pillon M., Emanuele G., Conter V., Piglion M., Lo Nigro L., et al. Minimal Disseminated Disease in High-Risk Burkitt's Lymphoma Identifies Patients With Different Prognosis. *J Clin Oncol* 2011; 29 (13): 1779–84. DOI: 10.1200/JCO.2010.32.8161
 10. Scherer F., Kurtz M., Diehn M., Alizadeh A.A. High-throughput sequencing for noninvasive disease detection in hematologic malignancies. *Blood* 2017; 130: 440–52.
 11. Sánchez R., Ayala R., Martínez-López J. Minimal Residual Disease Monitoring with Next-Generation Sequencing Methodologies in Hematological Malignancies. *Int J Mol Sci* 2019; 20 (11): 2832.
 12. Sepulveda J., Seija N., Oppezio P., et al. The Antigen Receptor as a Driver of B-Cell Lymphoma Development and Evolution. In: Guevara M., Balatzenko G., eds. *Hematology – Latest Research and Clinical Advances*. London: IntechOpen; 2017.
 13. Ching T., Duncan E., Newman-Erkles T., McWhorter M.M.E., Tracy J.M., Steen M.S. et al. Analytical evaluation of the clonoSEQ Assay for establishing measurable (minimal) residual disease in acute lymphoblastic leukemia, chronic lymphocytic leukemia, and multiple myeloma. *BMC Cancer* 2020; 20 (1): 612. DOI: 10.1186/s12885-020-07077-9
 14. Onecha E., Linares M, Rapado I., Ruiz-Heredia Y., Martinez-Sanchez P., Cedena T., et al. A novel deep targeted sequencing method for minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2019; 104 (2): 288–96. DOI: 10.3324/haematol.2018.194712
 15. Rossi D., Diop F., Spaccarotella E., Monti S., Zanni M., Rasi S., et al. Diffuse large B-cell lymphoma genotyping on the liquid biopsy. *Blood* 2017; 129 (14): 1947–57. DOI: 10.1182/blood-2016-05-719641
 16. Kennedy R., Schmitt W., Fox J., Nanjangud G., Chaganti R.S., Küppers R., et al. Detecting ultralow-frequency mutations by duplex sequencing. *Nat Protoc* 2014; 412 (6844): 341–6. DOI: 10.1038/35085588
 17. Pasqualucci L., Neumeister P., Goossens T., Nanjangud G., Chaganti R.S., Küppers R. et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature* 2001; 412 (6844): 341–6. DOI: 10.1038/35085588
 18. Lauer M., Mutter J., Scherer F. Circulating tumor DNA in B-cell lymphoma: technical advances, clinical applications, and perspectives for translational research. *Leukemia* 2022; 36: 2151–64.
 19. Комков А.Ю., Мирошниченкова А.М., Ольшеванская Ю.В., Мякова Ю.В., Дьяконова Ю.Ю., Минервина А.А. и др. Детекция перестроек иммуноглобулиновых генов при острых лимфобластных лейкозах с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения. *Гематология и трансфузиология* 2016; 61 (4): 200–4. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-4-200-204
 20. Sarkozy C., Huet S., Carlton E., Fabiani B., Delmer A., Jardin F. et al. The prognostic value of clonal heterogeneity and quantitative assessment of plasma circulating clonal IG-VDJ sequences at diagnosis in patients with follicular lymphoma. *Oncotarget* 2017; 8 (5): 8765–74. DOI: 10.18632/oncotarget.14448
 21. Kurtz M., Green R., Bratman V., Scherer F., Long Liu C., Kunder C.A., et al. Noninvasive monitoring of diffuse large B-cell lymphoma by immunoglobulin high-throughput sequencing. *Blood* 2015; 125 (24): 3679–87. DOI: 10.1182/blood-2015-03-635169

Единое решение для реализации проектов молекулярной визуализации

Компания GE HealthCare в России более 20 лет реализует проекты в области позитронно-эмиссионной томографии, однофотонной эмиссионной компьютерной томографии и радиохимии, оказывая комплексную поддержку по следующим направлениям:



Консультирование
на всех этапах проекта



Планировочные
решения
в соответствии с GMP



Комплексные решения



Многоэтапное
обучение* персонала



Сервисная поддержка



Возможность научного
взаимодействия после
завершения проекта

GE HealthCare

БЦ «Башня на Набережной», Москва-Сити
123112, г. Москва, Пресненская наб., 10 А
Тел.: (495) 739 69 31, факс: (495) 739 69 32,
тел. горячей линии: + 7 800 333 69 67
(бесплатный номер для звонков из регионов РФ)

www.gehealthcare.ru

*Обучение не включает образовательные программы, требующие наличия у ООО «ДжиИ Хэлскеа» образовательной лицензии.

Информация для работников здравоохранения.

© 2023 GE HealthCare. На правах рекламы. JB47524RU
GE является товарным знаком компании General Electric,
используемым на основании лицензионного соглашения

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 17.11.2022

Accepted 28.12.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-40-45

The prognostic significance of cytokine receptor-like factor 2 expression and *JAK2* mutation in pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia: A prospective cohort study

M. Abd El Monem, R. El Ashry, M.R. Bassiouny, S. Aref, S. Abd El Mabood

Mansoura University, Egypt

Correspondence:

Suzy Abd El Mabood,
Associate Professor of Pediatrics, Pediatric
Hematology, Oncology and BMT Unit,
Mansoura University Children Hospital,
Oncology Center Mansoura University,
Faculty of Medicine, Mansoura University
Address: Elgomhouria St.,
35516 Mansoura City, Egypt
E-mail: suzyabdelmabood@yahoo.com

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common pediatric malignancy. Philadelphia (Ph)-like B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) is defined by a gene expression profile similar to Ph-positive B-ALL and shows a large number of genetic alterations in the cytokine receptor and kinase-signaling pathway genes that contribute to its aggressive phenotype and frequent disease recurrence – the main cause of death in affected children. Here, we aimed to correlate CRLF2 expression and *JAK2* mutations in B-ALL patients with other prognostic factors and the patients' outcomes as well as to evaluate their prognostic significance. The study was approved by the local institutional review board and written consents were obtained from a parent of each child before their enrolment. We included 54 newly diagnosed B-ALL pediatric patients (median age: 9.0 (2.0–18.0)) who were stratified either into a standard-risk (SR) or high-risk (HR) group and treated according to the modified Berlin-Frankfurt-Münster 90 protocol (ALL-BFM 90). Fresh bone marrow samples were used to determine CRLF2 expression as well as to search for the *JAK2* V617F mutation. Normal CRLF2 expression was reported in the SR patients much more often than in the HR group, while its overexpression was more common in the HR patients than in the SR ones (22 vs 6 and 18 vs 8, respectively, $p < 0.001$). CRLF2 was also more often overexpressed in the MRD-positive cases than in the negative ones (17 vs 9, $p < 0.001$), while normal CRLF2 expression was more common in the MRD-negative patients compared to the MRD-positive ones (24 vs 4, $p < 0.001$) which supports the unfavorable prognostic value of CRLF2 in relation to MRD positivity at the end of the induction treatment. *JAK2* mutation was detected only in 2 patients belonging to the CRLF2 overexpression group which made the assessment of the prognostic significance of this mutation impossible. Notably, none of the patients with normal CRLF2 expression ended up relapsing while 4 patients with overexpressed CRLF2 developed a relapse ($p = 0.031$). The study subjects were followed up for up to 24 months, and we did not find CRLF2 overexpression to negatively influence overall survival, however, it did have an adverse effect on relapse-free survival. In summary, CRLF2 overexpression was found to be an unfavorable prognostic factor in childhood ALL as it was expressed more in high-risk patients and in those with poor treatment response. The analysis of CRLF2 expression in B-ALL pediatric patients may help in risk stratification and can potentially offer new treatment options based on novel CRLF2 inhibitors.

Key words: B-cell acute lymphoblastic leukemia, CRLF2, *JAK2*, MRD, overexpression

Abd El Monem M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 40–5.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-40-45

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common pediatric malignancy characterized by long-term survival rates approaching 80% in developed countries [1, 2]. Nevertheless, relapse represents the main reason behind death [3]. High-resolution genome-wide profiling and sequencing studies demonstrate that the risk of ALL relapse is associated with specific biological features of the leukemic cells including gene mutations, copy number variations and gene fusions [4].

Philadelphia (Ph)-like B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL), also known as B-lymphoblastic leukemia/lymphoma BCRABL1-like, is defined by a gene expression profile similar to Ph chromosome-positive B-ALL (Ph BALL) but lacks the rearrangement of t(9;22) (q34;q11;2)/ BCR-ABL1. It shows large

number of genetic alterations in the cytokine receptor and kinase-signaling pathway genes that contribute to its aggressive phenotype and frequent disease recurrence [5].

Cytokine receptor-like factor 2 (CRLF2), located on chromosome Xp22.3 and Yp11 has been found to be overexpressed in approximately half of the Ph-like B-ALL [6]. The frequency of *JAK2* mutations in ALL has been reported to be about 10% in pediatric high-risk (HR) ALL. Investigation of Janus Kinase 2 (*JAK2*) mutation status showed association of *JAK2* mutations (most notably *JAK2*-R683G) in about half of cases with CRLF2 overexpression in DS-ALL. This strong association of CRLF2 overexpression and *JAK2* mutation suggested that these proteins might cooperate to transform cells, especially because CRLF2

is a JAK-binding, Box 1 motif-containing cytokine receptor [7].

In this study we aimed to identifying the frequency of CRLF2 and *JAK2* mutations among pediatric B-ALL patients, determining their association with other risk factors and detecting their prognostic significance in response to treatment protocol.

MATERIALS AND METHODS

Study design and patients' enrollment

A prospective Cohort study was conducted in a Pediatric Oncology Unit, Mansoura University Oncology Center, including all newly diagnosed B-ALL patients ($n = 54$) who are less than 18 years old over a period of 1 year (from January 2018 till December 2018). The study was approved by the local institutional review board and written consents were obtained from a parent of each child before their enrolment.

Methods

Leukemia diagnosis

Bone marrow (BM) examination was the basis of ALL diagnosis, whenever BM exhibits blast $> 25\%$ [8] with additional positive ALL diagnosis confirmations by flowcytometric analysis.

Patients risk stratification

Patients were categorized to standard risk (SR) and HR groups according to National Cancer Institute (NCI) criteria [9]: Patients with an age ranging from more than 1 year or less than 10 years, initial WBC count $< 50 \times 10^9/L$, absence of extramedullary disease during presentation in addition to negative minimal residual disease (MRD) after induction of remission were classified as being SR ALL subjects, otherwise they were considered to be HR ALL patients.

Detection of CRLF2 expression and *JAK2* V617F mutation

One millimetre of EDTA fresh BM samples were obtained from each one child included in our study in order to determine CRLF2 expression as well as *JAK2* V617F mutation detection.

CRLF2 expression by flowcytometry

For CRLF2 analysis by flowcytometry, the stain/lyse/wash technique was used. Briefly, in single tube, we add fresh BM samples (100 μL) with the surface MoAb, 10 μL of the CRLF2-PE MoAb, 10 μL of CD10-FITC MoAb, and 10 μL of CD45 APC, PerCP-CY5.5/CD19 mixed well, and incubated for 20 minutes at room temperature. The cells were then washed twice with phosphate-buffered saline (PBS); 2 ml lysing solution was added, mixed, and left for 15 minutes in the dark,

and then the cells were washed twice with PBS. After the last wash, the cells were suspended in 500 μL of PBS, and then analyzed using a flow cytometer (FACS Canto flow cytometer with Cell Quest software; Becton Dickinson, CA, USA). At least 10,000 events/tube were measured. The blast gate was defined based on CD45 dim expression and side-scatter characteristics and calculated as a percentage of total gated events. For analysis of CD CRLF2 expression, measurements included mean fluorescence intensity (MFI) on leukemic blasts (adjusted for background fluorescence using negative internal controls) and relative MFI ratio (divide the MFI values of defined leukemic blasts by lymphocytes events).

Interpretation of the results

Regarding the CRLF2 staining, the negative control was initially defined as the mature lymphocytes of the BM samples analyzed. A cutoff of 10% of positive cells for the CRLF2 as recommended by Dworzak et al. [10]. Patients have $\geq 10\%$ CRLF2 expression were considered positive.

JAK2 V617F mutation detection

DNA extraction and quantification

Genomic DNA extraction was carried out from EDTA blood samples using extraction kit obtained from (Genejet genomic DNA extraction kit (Thermo Fisher Scientific) made in USA). The concentration and quality of extracted DNA was tested by Nano drop (Applied Biosystems, USA). The concentration of extracted DNA was assessed by spectrophotometry at wave length 260:280 and 260: 280. DNA sample whose ratio was < 1.8 were excluded. The DNA samples integrity were assessed by agarose gel electrophoresis.

ASO-PCR technique for *JAK2* V617F mutation detection

Allele Specific oligonucleotide probe (ASO-PCR) was applied using a common reverse primer *JAK2* R (5'-CTGAATAGTCCTACAG TGTTTTCAGTTTCA-3') and 2 forward primers named *JAK2* F Mut (5'-AGCATTGGT-TTTAAATTATGGAGTATATT-3') specific for the mutant allele containing an intentional mismatch at third nucleotide from the 3' end and *JAK2* F WT (5'-ATCTAT-AGTCATGCTGAAAGTAGGAGAAAG-3') as internal control which amplifies the wild-type allele. PCR was performed, after an initial denaturation of 1 min to 95°C, 35 cycles of denaturation, annealing and extension of 1 min each with the temperatures of 95, 58 and 72°C respectively. The PCR amplified products were run agarose gel 2% along with 100 bp ladder, the gels were stained by ethidium bromide, To confirm findings Sanger sequencing (ABI 310 genetic analyzer, Applied Biosystems) was done for PCR products of random positive selected samples [11].

Treatment protocol

B ALL patients were treated using modified Berlin-Frankfurt-Münster 90 (ALL-BFM 90) [12].

Assessment of response to induction chemotherapy on day 28

Patients were considered in complete remission (CR) when BM aspirate showed lymphoblasts < 5% with normal haematopoiesis and MRD using flow cytometry was negative (defined as having < 0,01% leukemic cells in BM) [13].

Follow up of treatment outcome

Patients were followed during chemotherapy treatment for at least 2 years. Patients were relapsed when BM was reinfiltrated with $\geq 25\%$ blasts or presence of blasts in an extra-medullary site [8].

Ethical consideration

The study was conducted in accordance with the declaration of Helsinki [14]. Written consents were obtained from either parent of each child before being enrolled in the study. The study was approved by local the institutional review board on 7th of March, 2019.

Statistical analysis and data interpretation

Data were fed to the computer and analyzed using IBM SPSS software package version 26 (IBM, Inc, Chicago, USA). Patients' data were compared using Chi-squared (χ^2), Fisher's exact, Mann Whitney U or Student t-tests appropriately according to the type of data. Overall survival (OS) was estimated from the time of diagnosis till the time of death or the last follow up. Event free survival (EFS) was determined from the time of diagnosis till the occurrence of the first event (i.e., relapse). Both OS and EFS were calculated by Kaplan-Meier analysis and differences were compared using the log-rank test. The diagnostic performance of a test, or the accuracy of a test to discriminate diseased cases from non-diseased cases is evaluated using Receiver Operating Characteristic (ROC) curve analysis. Sensitivity and Specificity were detected from the curve and Positive predictive value, negative predictive value and accuracy were calculated through cross tabulation.

RESULTS

The study included 54 newly diagnosed B ALL pediatric patients with the median age in years was 9.0 (2.0–18.0), 35 patients were males and 19 were females. Median TLC $\times 10^9/L$ at diagnosis was 6 (0.5–220). The mean percentage of blasts in the BM was 88.20 ± 8.95 . The median CRLF2 was

16.9 (1.2–98.9) and JAK2 mutation was found in only 2 patients (table 1).

Table 2 illustrates CRLF2 expression according to patients' risk stratification, JAK2 mutation and treatment response. Normal CRLF2 expression was significantly more among SR patients than HR group, while over expression was more reported in HR patients than SR ones (22 V_s 6 and 18 V_s 8, $p < 0.001$). Negative MRD patients showing normal CRLF2 expression were more than MRD positive ones, while CRLF2 overexpression was more among MRD positive group when they were compared to MRD negative cases with statistical significance (24 V_s 4 and 17 V_s 9, $p < 0.001$ respectively). Furthermore, all patients with normal CRLF2 expression 28 (100%) did not exhibit relapse but 4 (15.4%) patients with overexpression relapsed with significant p value (0.03). JAK2 mutation was detected only in 2 patients belonging to CRLF2 overexpression group without statistical significance ($p = 0.135$).

The predictive validity of CRLF2 for mortality and relapse was evaluated using ROC curve (figure 1, 2) respectively. Area under curve for CRLF2 is fair with the best detected cut off point for mortality and relapse is 40% and 50.15% yielding accuracy of 64.8% and 78% respectively.

Table 1
Demographic and laboratory characteristics of the studied group

Parameter	Value
Data	$n = 54$
Age, median (min-max), years	9.0 (2.0–18.0)
Sex:	
male	35 (64.8%)
female	19 (35.2%)
TLC at diagnosis, median (min-max) mm ³	6000 (500–220 000)
Blast cells (mean $\pm$ SD), % in BMA	88.20 ± 8.95
CRLF2, median (min-max)	16.9 (1.2–98.9)
JAK2 mutation:	
present	2 (3.7%)
absent	52 (96.3%)

Notes. TLC – total leucocyte count; BMA – BM aspirate; CRLF2 – cytokine receptor-like factor2.

Table 2
CRLF2 expression according to patients' risk stratification, JAK mutation and treatment response

Parameter	Normal CRLF2 expression ($n = 28$)	Overexpressed CRLF2 ($n = 26$)	Test of significance and p value
Risk category:			
SR	22 (78.6%)	8 (30.8%)	$\chi^2 = 12.476$ $p < 0.001^*$
HR	6 (21.4%)	18 (69.2%)	
MRD:			
positive	4 (19%)	17 (81%)	FET = 14.812 $p < 0.001^*$
negative	24 (72.7%)	9 (27.3%)	
Treatment Response:			
relapse	0 (0%)	4 (15.4%)	FET = 4.652 $p = 0.031^*$
no relapse	28 (100%)	22 (84.6%)	
JAK2 mutation:			
non-mutant	28 (100%)	24 (92.3%)	FET = 2.237 $p = 0.135$
mutant	0 (0%)	2 (7.7%)	

Notes. FET – Fischer's exact test, χ^2 – chi-square test; * – significant p value

Figure 1
ROC curve of CRLF2 to predict mortality (area under curve is fair with the best detected cut off point for mortality is 40 yielding accuracy of 64.8%)

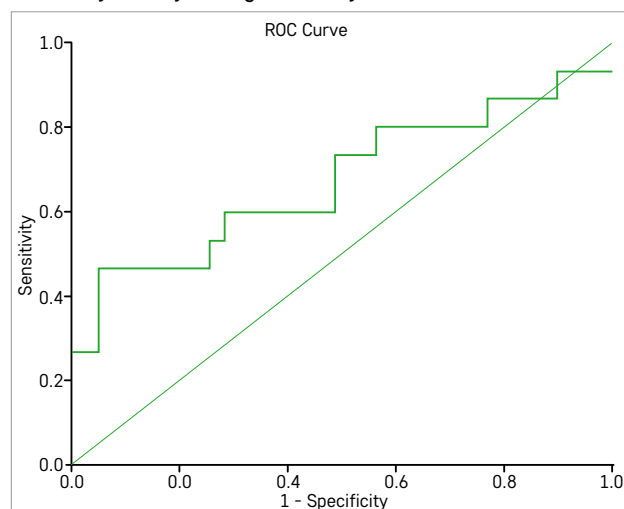
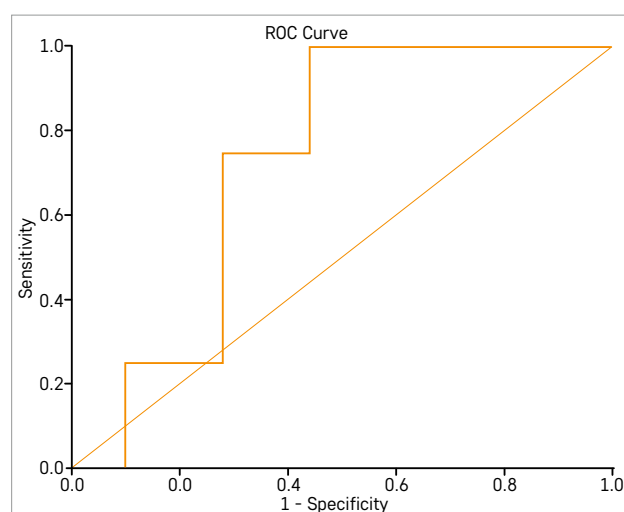


Figure 2
ROC curve of CRLF2 to predict relapse (area under curve is fair with the best detected cut off point for relapse is 50 yielding accuracy of 78%)



OS was defined as the time from the diagnosis to death from any cause or the last follow-up (OS) using Kaplan–Meier analysis did not differ significantly among patients with overexpressed CRLF2 and those with normal expression ($p = 0.22$) (figure 3), however patients with CRLF2 overexpression had significantly worse relapse free survival (RFS) than patients with normal expression ($p = 0.03$) (figure 4).

Discussion

One of the major achievements in cancer therapy has been the increased cure rates for ALL thanks to better understanding and assessment of conventional prognostic factors as well as identification of molecular markers that are associated with a better response to therapy. Suitable risk stratification has permitted a more personalized treatment, selecting patients

Figure 3
Kaplan–Meier curve for OS among patients with normal and overexpressed CRLF2

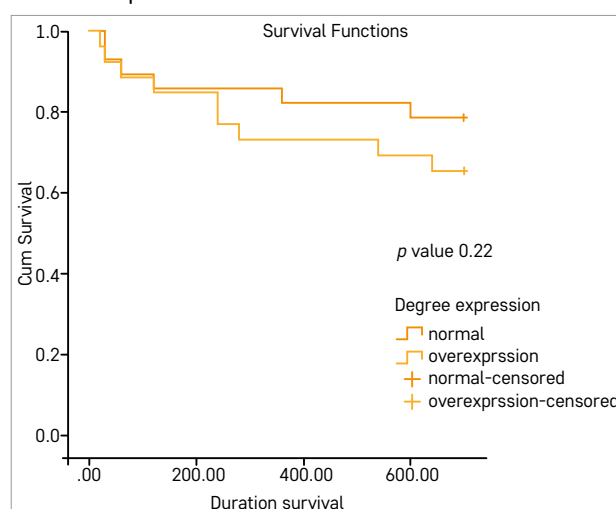
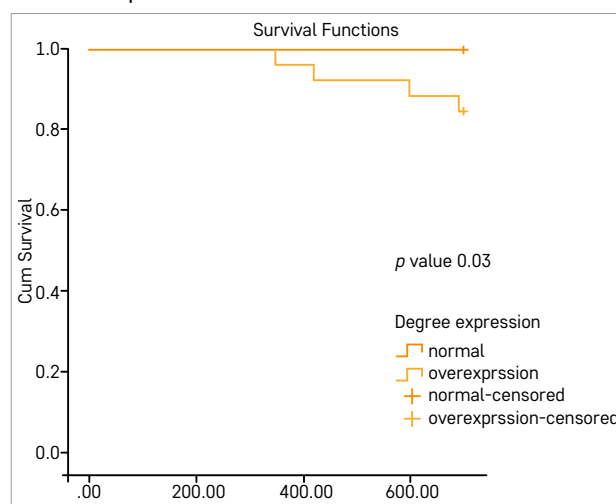


Figure 4
Kaplan–Meier curve for RFS among patients with normal and overexpressed CRLF2



for receiving standard or intensified therapy, alone or in combination with ALL specific target therapies, and together with an enhanced supportive care have contributed to the increase in the event-free survival (EFS) rates [15].

In the current study CRLF2 overexpression was more among patients with HR B-ALL (69%) than in the patients with SR B-ALL (31%). CRLF2 overexpression has been described at various rates in the literature. Our results are consistent with Yamashita et al. [17] who found higher CRLF2 gene expression in HR-ALL than in SR-ALL patients. However, previous results from research by the United States Children's Oncology Group and a study of Japanese pediatric B-ALL series showed less CRLF2 overexpression (17–18%) of unselected B-ALL patients [18, 19]. The difference may be attributed to lack of risk categorization in the latter studies.

Different CRLF2 overexpression incidences observed in different groups are likely attributed in part to different methods used to define the cut-off point for CRLF2 overexpression. Some set the cut-off at the lowest level of CRLF2 expression in a patient with a known CRLF2 rearrangement (P2RY8-CRLF2 or IGH-CRLF2) [18, 20] while others defined the threshold as over certain folds (e.g. 10- or 20-fold) of overall median expression value [17, 21–23]. In this study, we adopt Dworzak et al. [10] definition of CRLF2 overexpression cut-off point as 5 folds or more over the median expression.

In the present study, we could not find prognostic significance of *JAK2* mutation because of the rarity of its occurrence among the studied group (in only 2 patients). Asai et al. [23] also failed to identify *JAK2* mutations in 202 unselected B-ALL cases in a Japanese cohort. This may be attributed to the ethnic differences as *JAK2* mutations are more prevalent in Hispanic patients with B-ALL than in Caucasian patients [21]. Although *JAK2* mutation is only detected in 2 patients but both belonged to CRLF2 overexpression group. This was emphasized by the results of Konoplev et al. [24] showing that *JAK2* was frequently mutated in CRLF2⁺ B-ALL and did not test its mutation in CRLF2[–] B-ALL as it has been shown in previously published studies that *JAK2* mutation is infrequent in CRLF2[–] cases [25, 26].

MRD's clinical significance is now generally acknowledged, and it is often recognized as the most important prognostic factors in current ALL treatment. MRD monitoring based on a specific marker can help us to predict leukemia relapse and determine the best-individualized treatment. In the present work, CRLF2 level was significantly higher among MRD positive group. Furthermore, most of the patients with positive MRD belong to CRLF2 overexpression. This supports the unfavorable prognostic value of CRLF2 in relation to MRD positivity at the end of the induction.

Similarly, Chen et al. [27] studied the association of high CRLF2 expression with end induction MRD and observed that ALL cases with high CRLF2 gene expression are associated with higher MRD level at the end of induction and poor RFS. However, Palmi et al. [12], who classified his patients' groups into a HR group, intermediate-risk group, and SR group, found no statistically significant difference between CRLF2 overexpression and MRD across the different risk subgroup ($p = 0.09$).

In the present work, patients were followed for the treatment response up to 24 months, and we did

not find an influence of CRLF2 overexpression on OS. These results go hand in hand with the findings of Dworzak et al. [10] who also did not report negative impact of CRLF2 overexpression on OS ($p = 0.35$). This may be attributed to the heterogeneity and plenty of factors that affect the mortality in ALL patients other than treatment response (e.g., serious infections, drug toxicities and others).

Unlike OS, CRLF2 overexpression had an adverse effect on RFS. This highlights the poor prognostic significance of CRLF2 evidenced by significantly higher relapse rate among patients with overexpression of CRLF2. This is consistent with Yamashita et al. [17] who reported that 4-year EFS for the patients with high CRLF2 expression was significantly worse than those with low expression ($p = 0.003$) and difference was recognized only in HR-ALL patients. Also, Dou et al. [28] found that patients with CRLF2 overexpression had shorter EFS ($p = 0.004$).

In summary, CRLF2 overexpression was found to be unfavorable prognostic factor for childhood ALL as it was expressed more in HR patients and in those with poor treatment response i.e., higher relapse rate. However, we could not find prognostic significance of *JAK2* mutation as it was reported only in 2 patients belonging to CRLF2 overexpression group. This emphasizes the role of CRLF2 overexpression in the prediction of treatment response and encourages its involvement in risk stratification-based therapy. Preceding MRD detection at the end of induction chemotherapy, CRLF2 expression can be endorsed for tailoring the initial treatment plan for patients according to its level of expression.

CONCLUSION

CRLF2 overexpression is associated with poor outcome in pediatric B-ALL, so that it can be used as a prognostic factor for predicting patient response to treatment. Involvement of CRLF2 expression in diagnostic workup of B-ALL may help in risk stratification and offer potential therapy based on novel CRLF2 inhibitors.

FUNDING

Not specified.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

- Maloney K.W., Devidas M., Wang C., Mattano L.A., Friedmann A.M., Buckley P., et al. Outcome in children with standard-risk B cell acute lymphoblastic leukemia: results of Children's Oncology Group Trial AALL0331. *J Clin Oncol* 2020; 38 (6): 602–12.
- Pieters R., de Groot-Kruseman H., Van der Velden V., Fiocco M., van den Berg H., Bont E.D., et al. Successful therapy reduction and intensification for childhood acute lymphoblastic leukemia based on minimal residual disease monitoring: Study ALL10 from the Dutch Childhood Oncology Group. *J Clin Oncol* 2016; 34 (22): 2591–601.
- Gaynon P.S. Childhood acute lymphoblastic leukaemia and relapse. *Br J Haematol* 2005; 131 (5): 579–87.
- Germano G., Del Giudice L., Palatron S., Giarin E., Cazzaniga G., Biondi A., et al. Clonality profile in relapsed precursor-B-ALL children by GeneScan and sequencing analyses. Consequences on minimal residual disease monitoring. *Leukemia* 2003; 17 (8): 1573–82.
- Harvey R.C., Tasian S.K. Clinical diagnostics and treatment strategies for Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood Adv* 2020; 4 (1): 218–28.
- Iacobucci I., Roberts K.G. Genetic Alterations and Therapeutic Targeting of Philadelphia-Like Acute Lymphoblastic Leukemia. *Genes* 2021; 12 (5): 687.
- Jerchel I. Signaling Pathways as Therapeutic Targets in Pediatric B-cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia; 2018.
- Lanzkowsky P. Leukemias. In: Lanzkowsky P. eds. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. 3rd ed. San Diego: Academic Press; 2005. Pp. 411–8.
- Smith M., Arthur D., Camitta B., Carroll A.J., Crist W., Gaynon P., et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1996; 14: 18–24.
- Dworzak M., 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: iBFM-flow standards for immunophenotyping of pediatric ALL. *Cytometry B Clin Cytom* 2018; 94 (1): 82–93.
- Syed N. JAK2 and Beyond: JAK2V617 Mutational Study of Myeloproliferative Disorders and Hematological Malignancies. *Asian Pac J Cancer Prev* 2019; 20 (12): 3611–5.
- Schrappé M., Reiter A., Sauter S., Ludwig W.D., Wörmann B., Harbott J., et al. Concept and interim result of the ALL-BFM 90 therapy study in treatment of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents/ the significance of initial therapy response in blood and bone marrow. *Klin Padiatr* 1994; 206: 208–21.
- Campana D. Molecular determinants of treatment response in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; 366–73.
- World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. *Bull World Health Organ* 2001; 79 (4): 373–4.
- Pui C.H., Pei D., Coustan-Smith E., Jeha S., Cheng C., Bowman W.P., et al. Clinical utility of sequential minimal residual disease measurements in the context of risk-based therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a prospective study. *Lancet Oncol* 2015; 16 (4): 465–74.
- Chiaretti S., Brugnolletti F., Messina M., Paoloni F., Fedullo A.L., Piciocchi A., et al. CRLF2 overexpression identifies an unfavourable subgroup of adult B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia lacking recurrent genetic abnormalities. *Leuk Res* 2016; 41: 36–42.
- Yamashita Y., Shimada A., Yamada T., Yamaji K., Hori T., Tsurusawa M., et al. *IKZF1* and *CRLF2* gene alterations correlate with poor prognosis in Japanese BCR-ABL1-negative high-risk B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60 (10): 1587–92.
- Chen I.M., Harvey R.C., Mullighan C.G., Gastier-Foster J., Wharton W., Kang H., et al. Outcome modeling with CRLF2, IKZF1, JAK, and minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia: A Children's Oncology Group study. *Blood* 2012; 119: 3512–22.
- Yano M., Imamura T., Asai D., Moriya-Saito A., Suenobu S., Hasegawa D., et al. An overall characterization of pediatric acute lymphoblastic leukemia with CRLF2 overexpression. *Genes Chromosomes Cancer* 2014; 53: 815–82.
- Cario G., Stanulla M., Fine B.M., Teufel O., Neuhoft N.V., Schrauder A., et al. Distinct gene expression profiles determine molecular treatment response in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2005; 105 (2): 821–6.
- Harvey R.C., Mullighan C.G., Wang X., Dobbin K.K., Davidson G.S., Bedrick E.J., et al. Identification of novel cluster groups in pediatric high-risk B-precursor acute lymphoblastic leukemia with gene expression profiling: correlation with genome-wide DNA copy number alterations, clinical characteristics, and outcome. *Blood* 2010; 116 (23): 4874–84.
- Palmi C., Vendramini E., Silvestri D., Longinotti G., Frison D., Cario G., et al. Poor prognosis for P2RY8-CRLF2 fusion but not for CRLF2 overexpression in children with intermediate risk B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2012; 26 (10): 2245–53.
- Asai D., Imamura T., Suenobu S., Saito A., Hasegawa D., Deguchi T., et al. IKZF1 deletion is associated with a poor outcome in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in Japan. *Cancer Med* 2013; 2 (3): 412–9.
- Konoplev S., Lu X., Konopleva M., Jain N., Ouyang J., Goswami M., Roberts K.G., et al. CRLF2-Positive B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Adult Patients: A Single-Institution Experience. *Am J Clin Pathol* 2017; 147 (4): 357–63.
- Roberts K.G., Morin R.D., Zhang J., Hirst M., Zhao Y., Su X., et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2012; 22: 153–66.
- Roberts K.G., Li Y., Payne-Turner D., Harvey R.C., Li Yang Y., Pei D., et al. Targetable kinase activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371: 1005–15.
- Chen X., Wood B.L. Monitoring minimal residual disease in acute leukemia: Technical challenges and interpretive complexities. *Blood Rev* 2017; 31 (2): 63–75.
- Dou H., Chen X., Huang Y., Su Y., Lu L., Yu J., et al. Prognostic significance of P2RY8-CRLF2 and CRLF2 overexpression may vary across risk subgroups of childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2017; 56 (2): 135–46.

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 27.12.2022
Принята к печати 18.01.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-46-52

Опыт применения инотузумаба озогамицина у детей с рецидивами и рефрактерным течением В-линейного острого лимфобластного лейкоза

Д.А. Евстратов, А.Д. Шутова, Ю.Ю. Дьяконова, С.А. Радыгина, Ю.Г. Абугова, Л.Х. Андержанова, Л.А. Вавилова, Д.В. Литвинов, Г.А. Новичкова, А.М. Попов, В.В. Фоминых, Л.А. Хачатрян, Л.Н. Шелихова, Н.В. Мякова

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

Контактная информация:

Евстратов Дмитрий Андреевич,
врач-гематолог отделения онкогематологии
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: Evstratov.D.A@yandex.ru

В настоящее время результаты терапии острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) являются весьма обнадеживающими, но, несмотря на это, у 10–15% пациентов развивается рецидив заболевания. Успешное лечение рецидива зависит от полноты эрадикации опухолевого клона перед проведением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Появление иммунотерапевтических агентов сделало возможным достижение ремиссии с отрицательной минимальной остаточной болезнью (МОБ) даже у пациентов, рефрактерных к химиотерапии. Примером такого препарата является конъюгат инотузумаб озогамицин (ИНО) – анти-CD22-моноклональное антитело, связанное с цитотоксическим агентом калихеамицином. В работу были включены 17 пациентов в возрасте до 18 лет с рецидивами или рефрактерными формами ОЛЛ из В-клеточных предшественников (ВП-ОЛЛ), получившие терапию ИНО в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России с 01.10.2016 по 01.09.2022. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Оценка эффективности терапии проводилась по морфологическому ответу, достижению МОБ-негативности и общей выживаемости. Анализ токсичности проводился согласно CTCAE 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events). Статистическая обработка выполнялась на программном обеспечении XLSTAT 2016. Ответ на терапию был зафиксирован в большинстве случаев (75%). Среди всех пациентов отрицательный МОБ-статус был достигнут в 41,2% случаев. Общая однолетняя выживаемость пациентов составила 40,3% (95% доверительный интервал 14,8–65,7). Токсичность препарата была приемлемой, однако стоит отметить развитие веноокклюзионной болезни печени/синдрома синусоидальной обструкции у 33% пациентов, получавших ИНО в стандартной дозе с последующей ТГСК. Данное исследование продемонстрировало достаточно высокую эффективность ИНО в качестве как терапии «спасения» у пациентов с рецидивами и рефрактерным течением ВП-ОЛЛ, так и «бридж-терапии» перед ТГСК.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, рецидив, дети, инотузумаб озогамицин

Евстратов Д.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 46–52. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-46-52

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 27.12.2022
Accepted 18.01.2023

The use of inotuzumab ozogamicin in children with relapsed/refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia

D.A. Evstratov, A.D. Shutova, Yu.Yu. Dyakonova, S.A. Radygina, Yu.G. Abugova, L.Kh. Anderzhanova, L.A. Vavilova, D.V. Litvinov, G.A. Novichkova, A.M. Popov, V.V. Fominykh, L.A. Khachatryan, L.N. Shelikhova, N.V. Myakova

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

Correspondence:

Dmitry A. Evstratov,
a hematologist at the Oncohematology
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: Evstratov.D.A@yandex.ru

Today, treatment results for acute lymphoblastic leukemia (ALL) look encouraging, yet 10–15% patients still end up relapsing. The success of relapse treatment is directly dependent on whether or not a tumor clone has been completely eradicated before hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Immunotherapy made it possible to achieve minimal residual disease (MRD) – negative remission even in refractory patients. One example of such immunotherapeutic agents is inotuzumab ozogamicin (INO), an anti-CD22 monoclonal antibody conjugated to the cytotoxic agent calicheamicin. We included 17 patients under the age of 18 with relapsed or refractory precursor B-cell ALL (pre-B ALL) who had been treated with INO at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of Russia from 01.10.2016 to 01.09.2022. 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. The efficacy of the therapy was assessed based on the patients' morphological response, MRD negativity and overall survival. Treatment toxicity was assessed according to CTCAE 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events). Statistical analysis was performed using the XLSTAT 2016 software. The majority of the patients (75%) responded to the therapy. MRD negativity was achieved in 41.2% of the study patients. The one-year overall survival rate was 40.3% (95% confidence interval 14.8–65.7). The treatment was well tolerated but 33% of the patients treated with standard-dose INO and subsequent HSCT developed veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome. In our study, we demonstrated the high efficacy of INO both when used as a rescue therapy in patients with relapsed/refractory pre-B ALL and as a bridging therapy in patients before HSCT.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, relapse, children, inotuzumab ozogamicin

Evstratov D.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 46–52.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-46-52

В настоящее время результаты терапии острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) являются весьма обнадеживающими, но, к сожалению, у 10–15% пациентов развивается рецидив заболевания [1, 2]. Общая выживаемость (ОВ) после первого рецидива составляет 50–60%, в то время как безрецидивная выживаемость после повторных рецидивов не превышает 25% [3–5]. При лечении рецидивных и первично-рефрактерных форм (Р-Р) ОЛЛ обязательным компонентом терапии является проведение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Залог успешной ТГСК – ее проведение после достижения ремиссии с отсутствием минимальной остаточной болезни (МОБ). Для достижения такой ремиссии обычно используется высокодозная химиотерапия 2-й линии, которая, к сожалению, не всегда эффективна и, кроме того, может привести к токсическим осложнениям, компрометирующим дальнейшее лечение. В последнее время в арсенале онкогематологов появились новые препараты, которые изменили подходы к лечению детей с Р-Р ОЛЛ из В-клеточных предшественников (ВП-ОЛЛ). Это, прежде всего, таргетные препараты и иммунотерапия. Так, для достижения МОБ-негативной ремиссии и у взрослых, и у детей используется блинатумомаб – биспецифичное антитело, мишенью для которого является наличие CD19 на бластных клетках. Однако он может быть недостаточно эффективным при большом объеме опухоли или при отсутствии CD3⁺-лимфоцитов у пациента [6, 7].

Еще один подход – применение иммуноконъюгатов, таких как инотузумаб озогамин (ИНО), эффект которых не зависит от количества опухолевых клеток. ИНО состоит из моноклонального антитела к CD22, связанного с цитотоксическим агентом калихеамицином, расщепляющим нити ДНК в лейкемической клетке [8, 9]. ИНО был одобрен для взрослых пациентов с CD22-положительным Р-Р В-ОЛЛ на основании исследования INO-VATE ALL, в котором он показал эффективное сокращение опухолевой массы в 80% случаев [10]. CD22 является антигеном на поверхности большинства нормальных В-лимфоцитов (60–90%) [11] и экспрессируется на лейкемических клетках более чем в 90% случаев [12, 13]. Два ретроспективных исследования ИНО у детей с Р-Р ВП-ОЛЛ показали, что частота достижения ремиссии у всех пациентов составила примерно 67% [14, 15]. Результаты педиатрического исследования I фазы показали, что общая частота ответов составила 80% (95% доверительный интервал (ДИ) 59–93), при этом 84% (95% ДИ 60–97) пациентов достигли минимального уровня остаточной болезни [16]. Не так давно Children's Oncology Group (США) сообщила о достижении ремиссии в 58% случаев из

48 пациентов, включенных в исследование II фазы с использованием дозы 1,8 мг/м² [17].

ИНО – это готовый препарат, который можно вводить в виде короткой внутривенной инфузии, поэтому его удобно комбинировать с другими методами лечения, это в настоящее время исследуется в педиатрическом исследовании ITCC-059. В клиническом испытании ITCC-059 (идентификатор Регистра клинических испытаний ЕС (EudraCT) 2016-000227-71) проспективно исследовалось применение ИНО у детей в возрасте 1–18 лет с Р-Р CD22⁺ ОЛЛ [16]. Были пролечены 25 пациентов (включая 5 детей в возрасте до 6 лет), из них у 23 оценивалась дозозависимая токсичность. Было показано, что одобренная дозировка для взрослых (1,8 мг/м² на дозу, состоящую из 0,8 мг/м² на 1-й день, по 0,5 мг/м² на 8-й и 15-й дни) соответствует эффективной дозировке у детей. В данном исследовании 15 (60%) пациентов достигли полной ремиссии (ПР), 1 – ремиссии с неполным восстановлением тромбоцитов и 4 – ремиссии с неполным гематологическим восстановлением. У 16 из 19 пациентов, для которых были доступны данные МОБ, достигнут МОБ-негативный результат. У 3 пациентов наблюдалась печеночная токсичность в виде повышения трансаминаз и у 1 больного было длительное восстановление гемопоэза. Примечательно, что не было зарегистрировано ни одного случая веноокклюзионной болезни печени (ВОБ)/синдрома синусоидальной обструкции (ССО) как во время лечения ИНО, так и у 7 пациентов, которые получили ТГСК после терапии ИНО. Однако у 2 пациентов, получавших ИНО, впоследствии наблюдались ВОБ/ССО во время лечения мультиагентной химиотерапией при следующем рецидиве заболевания. Риск развития ВОБ/ССО требует дальнейшего изучения, особенно у детей.

В данной статье мы проанализировали опыт применения ИНО у пациентов с Р-Р ВП-ОЛЛ в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В анализ были включены пациенты до 18 лет с Р-Р ВП-ОЛЛ, которые получали терапию ИНО в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России с 01.10.2016 по 01.09.2022. Решение о назначении препарата принималось в каждом случае врачебной комиссией в целях достижения МОБ-негативной ремиссии перед аллогенной ТГСК. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Все пациенты и/или их законные представители подписывали добро-

вольное информированное согласие перед началом терапии ИНО.

Критерием начала терапии ИНО было обнаружение в костном мозге CD22⁺-лейкемических клеток при проточной цитометрии. Всем пациентам, за исключением 2, препарат вводился внутривенно в стандартных дозировках: 0,8 мг/м² – в 1-й день, по 0,5 мг/м² – в 8-й и 15-й дни.

Оценка эффективности терапии проводилась по контрольной миелограмме на 21-й день, достижению негативного значения МОБ ($< 10^{-4}$) по данным проточной цитометрии и ОВ. Оценка морфологического ответа проводилась по следующим критериям:

- ПР – в миелограмме бластные клетки составляют менее 5% в костном мозге методом морфологического исследования, нейтрофилы в периферической крови – более $0,5 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоциты – более $50 \times 10^9/\text{л}$;

- ПР без восстановления (ПРБВ) – в миелограмме бластные клетки составляют менее 5% в костном мозге методом морфологического исследования, нейтрофилы в периферической крови – менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$ и/или тромбоциты – менее $50 \times 10^9/\text{л}$;

- нет ремиссии – в миелограмме бластные клетки составляют более 5% в костном мозге методом морфологического исследования.

Анализ МОБ проводился при помощи 11-цветной проточной цитометрии на трехлазерном цитометре CytoFlex (Beckman Coulter, IN, США). Анализ токсичности проводился согласно CTCAE 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events) [18].

Статистическая обработка проводилась на программном обеспечении XLSTAT 2016. ОВ оценивалась методом Каплана–Мейера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С октября 2016 г. по сентябрь 2022 г. в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России 17 пациентов с Р-Р ВП-ОЛЛ получали терапию препаратом ИНО. Характеристика пациентов представлена в таблице 1. Медиана возраста на момент первичного заболевания ОЛЛ составила 6,4 (межквартильный размах (МКР) 3,6–11) года. Медиана возраста на момент начала терапии ИНО составила 8,6 (МКР 6,5–9,4) года. Среди пациентов преобладали мальчики ($n = 11$, 64,7%).

На момент начала терапии ИНО бластные клетки в периферической крови определялись у 8 (47,1%) пациентов, в ликворе – у 1 больного при травматической спинномозговой пункции. У 5 (29,4%) из 17 пациентов в костном мозге было менее 5% бластных клеток, но высокое значение МОБ. У остальных масса опухоли определялась при морфологическом исследовании – медиана относительного количества

недифференцированных бластных клеток в миелограмме составила 35,5% (МКР 3–85,5%). Медиана содержания в костном мозге опухолевых клеток методом проточной цитометрии составила 23,7% (МКР 1,45–71%). У 7 (41,2%) пациентов экспрессия CD19 на бластных клетках составляла менее 30% в связи с предшествующей терапией блинатумомабом ($n = 2$) и CAR-T-клеточной терапией ($n = 5$). Данные об экспрессии CD22 до начала терапии были доступны у 16 пациентов. Высокая экспрессия CD22 (более 75%) определялась у 15 (93,8%) пациентов.

У 12 (70,6%) пациентов в лейкокемическом клоне были выявлены цитогенетические и молекулярно-генетические поломки. У 2 пациентов была выявлена $t(12;21)$, у 2 – $t(17;19)$, у 2 – $t(4;11)$, у 2 – гиперплоидный клон, у 1 – $t(1;19)$, у 1 – перестройка *PAX5*, у 1 – амплификация *RUNX1* и у 1 – комплексный кариотип.

В данной когорте пациентов 11 (64,7%) человек получили ИНО в качестве терапии первого морфологического рецидива, 4 (23,5%) – в качестве терапии второго морфологического рецидива и 2 (11,8%) – в качестве терапии третьего морфологического рецидива. До терапии ИНО 8 (47,1%) пациентов получали терапию блинатумомабом, 6 (35,3%) – CAR-T-лимфоцитами, а ТГСК была уже выполнена 4 (23,5%) пациентам.

Пятнадцать пациентов получали ИНО в дозировке 0,8 мг/м² в 1-й день, по 0,5 мг/м² – в 8-й и 15-й дни. Одна пациентка получила 3 введения ИНО в дозе 1,8 мг/м² с интервалом 21 день и четвертое введение в той же дозе на 41-й день от третьего. Такой режим был обусловлен выраженной тромбоцитопенией и геморрагическими осложнениями на терапии. Один пациент получил 2 введения ИНО в дозе 1,25 мг/м² с интервалом в 1 нед.

Среди 12 пациентов с бластными клетками в костном мозге более 5% на момент начала терапии после ИНО ПР была достигнута у 4 (33,3%), ПРБВ – у 5 (41,7%), и не было достигнуто ремиссии у 3 (25%) пациентов. В целом морфологический ответ был достигнут в 75% случаев ($n = 9$), а значение МОБ менее 10^{-4} – в 41,2% случаев ($n = 7$).

На момент написания статьи 7 (41,2%) пациентам после применения ИНО проводилась другая терапия: 1 получил консолидирующую терапию меркаптопурином, низкими дозами цитарабина и циклофосфамидом, 2 – терапию CAR-T-лимфоцитами, 4 – блинатумомабом, один из них получил данный препарат в качестве консолидирующей терапии, несмотря на достижение нулевого значения МОБ после ИНО. Десяти (58,8%) пациентам была проведена ТГСК после терапии ИНО, одному из них ТГСК проводилась вместе с инфузией CAR-T-лимфоцитов.

Таблица 1
Характеристики пациентов

Table 1
The patients' characteristics

Параметр Parameter		Число пациентов, n (%) Number of patients, n (%)
Пол Gender	Мужской Male	11 (64,7)
	Женский Female	6 (35,3)
Морфологический рецидив Morphological relapse	Первый The first	11 (64,7)
	Второй The second	4 (23,5)
	Третий The third	2 (11,8)
Аллогенная ТГСК до ИНО Allogeneic HSCT before treatment with InO		4 (23,5)
CAR-T-клеточная терапия CAR-T cell therapy		6 (35,3)
Терапия блинатумомабом до ИНО Treatment with blinatumomab prior to InO		8 (47,1)
Цитогенетические и молекулярно-генетические перестройки Cytogenetic and molecular genetic rearrangements	t(12;21)	2 (11,8)
	t(17;19)	2 (11,8)
	t(4;11)	2 (11,8)
	t(1;19)	1 (5,9)
	Амплификация <i>RUNX1</i> <i>RUNX1</i> amplification	1 (5,9)
	Гиперплоидный клон Hyperploid clone	2 (11,8)
	Комплексный кариотип Complex karyotype	1 (5,9)
	Перестройка <i>PAX5</i> <i>PAX5</i> rearrangement	1 (5,9)
	Нет None	5 (29,4)
Бласты в спинномозговой жидкости Blasts in the cerebrospinal fluid		1 (5,9)
Бласты в костном мозге < 5% до терапии ИНО Blasts in the bone marrow < 5% before treatment with InO		5 (29,4)
Бласты в периферической крови Blasts in the peripheral blood		8 (47,1)
Ответ в костном мозге на терапию ИНО* Bone marrow response to treatment with InO*	ПР Complete remission (CR)	4 (33,3)
	ПРБВ CR with incomplete count recovery	5 (41,7)
	Отсутствие ремиссии No remission	3 (25)
ТГСК после ИНО HSCT after treatment with InO		10 (58,8)
Живы Alive		8 (47,1)

Примечание. * – ответ оценивался у 12 пациентов с количеством бластных клеток > 5% на момент начала терапии; у пациентки, которой провели 4 введения, ответ оценивался на 21-й день после последнего введения ИНО.

Notes. HSCT – hematopoietic stem cell transplantation; InO – inotuzumab ozogamicin; * – the response was assessed in 12 patients with a blast count of > 5% at the start of therapy; in a patient treated with 4 injections, the response was evaluated 21 days after the last injection of InO.

Причинами летального исхода у 9 (52,9%) пациентов были прогрессия заболевания ($n = 6$), ВОБ/ССО ($n = 1$), полиорганная недостаточность, вызванная септическим шоком ($n = 1$), и сочетание сепсиса и ВОБ/ССО ($n = 1$). Медиана наблюдения – 91 день. ОВ составила 40,3% (95% ДИ 14,8–65,7) (рисунк).

Нами был проведен анализ токсичности у 15 пациентов, которые получали терапию ИНО в стандартной дозировке (0,8 мг/м² в 1-й день, по 0,5 мг/м² в 8-й и 15-й дни). Данные представлены в таблице 2.

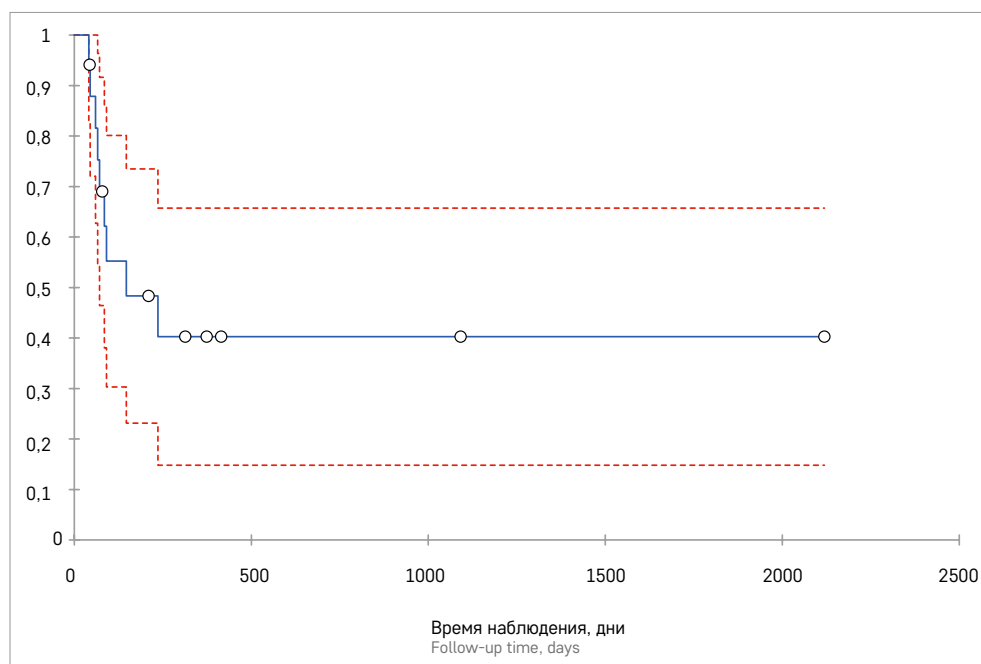
Из 10 пациентов, получивших ТГСК, ВОБ/ССО развились у 4, из них одной пациентке проводи-

лась терапия ИНО в виде 4 введений в разовой дозе 1,8 мг/м². Таким образом, среди 9 пациентов, которые получали ИНО в стандартной дозировке и которым была проведена ТГСК, у 3 (33%) развились ВОБ/ССО, из них 2 пациента умерли в связи с развитием этого осложнения.

У пациентки, которая получила 4 введения ИНО в разовой дозе 1,8 мг/м², на 5-е сутки после четвертого введения препарата развился геморрагический шок в связи с интраабдоминальным маточным кровотечением на фоне глубокой тромбоцитопении. Консервативная терапия оказалась неэффективной, с жизнепасающей целью была проведена гистерэктомия.

Рисунок
Кривая ОБ пациентов, получавших терапию ИНО

Figure
Overall survival curve for the patients treated with InO



У другой пациентки, которая получала ИНО в стандартной дозе, на 3-и сутки после второго введения развилось значимое носовое кровотечение на фоне глубокой тромбоцитопении, потребовавшее проведения передней тампонады носа, а на 8-е сутки от третьего введения ИНО на фоне прогрессии заболевания и спленомегалии у нее произошел разрыв селезенки с одномоментным излитием в брюшную полость около 1,6 объема циркулирующей крови и развитие геморрагического шока. Пациентке была экстренно проведена спленэктомия.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашей выборке терапия ИНО проводилась у детей с Р-Р ВП-ОЛЛ, уже получивших 1 или несколько линий терапии и оставшихся рефрактерными. В данную группу вошли 11 (64,7%) пациентов преимущественно с 1-м рефрактерным рецидивом, у остальных больных были 2-й и 3-й морфологические рецидивы. В качестве предшествующей терапии почти половина пациентов ($n = 8$; 47,1%) получали блинатумомаб, 6 (35,3%) – CAR-T-клеточную терапию, аллогенная ТГСК до терапии ИНО была проведена 4 (23,5%) пациентам.

Среди 12 детей без морфологической ремиссии в миелограмме ответ на терапию ИНО был зарегистрирован у 9 (75%): в 33,3% случаев была достигнута ПР на фоне восстановленного гемопоэза, в 41,7% гемопоэз не был восстановлен. Частота достижения ПР в нашем исследовании была несколько ниже, чем

Таблица 2
Токсичность ИНО*

Table 2
Toxicity of InO*

Параметр Parameter	I степень Grade I	II степень Grade II	III степень Grade III	IV степень Grade IV
АЛТ, % ALT, %	6,7	40	26,7	26,7
АСТ, % AST, %	20	53,3	6,7	20
Билирубин, % Bilirubin, %	60	26,7	13,3	–
Креатинин, % Creatinine, %	86,7	13,3	–	–
Анемия, % Anemia, %	13,3	33,3	53,3	–
Тромбоциты, % Platelets, %	6,7	33,3	20	40
Лейкоциты, % WBC, %	–	20	33,3	46,7
Нейтрофилы, % Neutrophils, %	13,3	6,7	20	60
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	6,7	26,7	20	46,6

Примечание. * – в анализ входили пациенты, получавшие ИНО в стандартной дозировке (0,8 мг/м² в 1-й день, по 0,5 мг/м² в 8-й и 15-й дни). АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза.
Notes. * – the analysis included the patients treated with standard-dose InO (0.8 mg/m² on Day 1, 0.5 mg/m² on Days 8 and 15). ALT – alanine transaminase; AST – aspartate transaminase.

в других публикациях (36–68%) [14, 16, 19–21]. Тем не менее частота ответа на терапию сопоставима с другими исследованиями, проведенными у детей (67–81,5%) [14, 16, 19].

Среди всех пациентов, получивших ИНО, у 41,2% был достигнут МОБ-негативный статус ($< 10^{-4}$), эти данные были сопоставимы с исследованием Pennesi и соавт., где после 1 курса МОБ-негативность была достигнута в 48,1% случаев. Примечательным явля-

ется тот факт, что при продолжении терапии МОБ-негативность была достигнута уже в 66,7% случаев [19].

Однолетняя ОВ пациентов составила 40,3% (95% ДИ 14,8–65,7), что сопоставимо с ранее опубликованными работами (36,3–55,1%) [14, 16, 19, 20]. Несмотря на достаточно небольшой период наблюдения, данные результаты говорят о достаточно высокой эффективности препарата, используемого в качестве терапии «спасения».

Наиболее часто токсичность III и IV степени наблюдалась со стороны гемопоэза, в частности нейтропения IV степени развилась у 60% пациентов. Также у половины пациентов отмечалась III–IV степень токсичности со стороны повышения уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ) и у четверти пациентов – аспартатаминотрансферазы (АСТ). Повышение билирубина выше II степени у большинства пациентов не было зафиксировано. Стоит отметить, что почечная токсичность не являлась выраженной в рассматриваемой когорте пациентов: токсичность III или IV степени не была зарегистрирована ни у одного больного. По данным литературы, у пациентов, получивших терапию ИНО, также отмечалась выраженная гематологическая токсичность, в том числе нейтропения [14, 21].

Во время введения препарата в нашей когорте пациентов не было случаев развития ВОБ/ССО, тем не менее в литературе имеются данные о развитии этого осложнения непосредственно во время терапии ИНО [19]. Однако наиболее часто риски повышаются после аллогенной ТГСК. В наиболее крупном на данный момент исследовании оценки эффективности и токсичности терапии ИНО у детей из 21 пациента, которым была проведена ТГСК, ВОБ/ССО развились у 11 (52%). Несмотря на высокую частоту ВОБ/ССО, это осложнение оказалось фатальным только в 2 случаях [14].

В нашей когорте аллогенная ТГСК была проведена у 10 (58,8%) пациентов. Среди 9 детей, которые получали терапию ИНО в стандартной дозе и в

дальнейшем получили ТГСК, ВОБ/ССО развились у 3 (33%). Из них 1 пациент умер непосредственно от ВОБ/ССО, 1 девочка умерла от развития полиорганной недостаточности, связанной с развитием септического шока и ВОБ/ССО, 1 больной полностью восстановился от этого осложнения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование продемонстрировало достаточно высокую эффективность ИНО в качестве терапии «спасения» у пациентов с Р-Р ВП-ОЛЛ. Потенциал применения этого препарата в более ранние сроки пока неизвестен, так как нужны дальнейшие проспективные исследования, однако с учетом его эффективности и приемлемой токсичности, возможно, он начнет применяться и в 1-й линии терапии. Одним из ограничивающих факторов для терапии ИНО в рецидиве является развитие ВОБ/ССО после ТГСК. Для выявления факторов риска развития этого осложнения необходимо проведение дальнейших исследований.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Evstratov D.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2801-7421>
Shutova A.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1814-6772>
Radygina S.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7696-1153>
Dyakonova Yu.Yu. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8725-7532>
Abugova Yu.G. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5201-6475>
Anderzhanova L.Kh. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3247-8688>
Vavilova L.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7959-3512>
Litvinov D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7461-0050>
Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>
Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>
Fominykh V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2294-0821>
Khachatryan L.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7265-0414>
Shelikhova L.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0520-5630>
Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Литература

1. Henze G., v Stackelberg A., Eckert C. ALL-REZ BFM-The consecutive trials for children with relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Klin Padiatr* 2013; 225 Suppl 1: S73–8.
2. Möricke A., Zimmermann M., Reiter A., Henze G., Schrauder A., Gadner H., et al. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia* 2010; 24 (2): 265–84.
3. Oskarsson T., Söderhäll S., Arvidsson J., Forestier E., Montgomery S., Bottai M., et al. Relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia in the Nordic countries: prognostic factors, treatment and outcome. *Haematologica* 2016; 101 (1): 68–76.
4. Parker C., Waters R., Leighton C., Hancock J., Sutton R., Moorman A.V., et al. Effect of mitoxantrone on outcome of children with first relapse of acute lymphoblastic leukaemia (ALL R3): an open-label

- randomized trial. *Lancet* 2010; 376 (9757): 2009–17.
5. Ko R.H., Ji L., Barnette P., Bostrom B., Hutchinson R., Raetz E., et al. Outcome of patients treated for relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia: a Therapeutic Advances in Childhood Leukemia Consortium study. *J Clin Oncol* 2010; 28 (4): 648–54.
 6. Mejstříková 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.
 7. Dourthe M.E., Rabian F., Yakouben K., Chevillon F., Cabannes-Hamy A., Méchinaud F., et al. Determinants of CD19-positive vs CD19-negative relapse after tisagenlecleucel for B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2021; 35 (12): 3383–93.
 8. DiJoseph J.F., Armellino D.C., Boghaert E.R., Khandke K., Dougher M.M., Sridharan L., et al. Antibody-targeted chemotherapy with CMC-544: A CD22-targeted immunoconjugate of calicheamicin for the treatment of B-lymphoid malignancies. *Blood* 2004; 103 (5): 1807–14.
 9. De Vries J.F., Zwaan C.M., De Bie M., Voerman J.S.A., den Boer M.L., van Dongen J.J.M., et al. The novel calicheamicin-conjugated CD22 antibody inotuzumab ozogamicin (CMC-544) effectively kills primary pediatric acute lymphoblastic leukemia cells. *Leukemia* 2012; 26 (2): 255–64.
 10. Kantarjian H.M., DeAngelo D.J., Stelljes M., Liedtke M., Stock W., Gökbuget N., et al. Inotuzumab ozogamicin versus standard of care in relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia: Final report and long-term survival follow-up from the randomized, phase 3 INOVATE study. *Cancer* 2019; 125 (14): 2474–87.
 11. Lanza F., Maffini E., Rondoni M., Masari E., Faini A.C., Malavasi F. CD22 expression in b-cell acute lymphoblastic leukemia: Biological significance and implications for inotuzumab therapy in adults. *Cancers* 2020; 12 (2): 303.
 12. Iwamoto S., Deguchi T., Ohta H., Kiyokawa N., Tsurusawa M., Yamada T., et al. Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: Report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol* 2011; 94 (2): 185–92.
 13. Shah N.N., Stevenson M.S., Yuan C.M., Richards K., Delbrook C., Kreitman R.J., et al. Characterization of CD22 expression in acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62 (6): 964–9.
 14. Bhojwani D., Sposto R., Shah N.N., Rodriguez V., Yuan C., Stetler-Stevenson M., et al. Inotuzumab ozogamicin in pediatric patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2019; 33 (4): 884–92.
 15. Calvo C., Cabannes-Hamy A., Adjaoud D., Bruno B., Blanc L., Boissel N., et al. Inotuzumab ozogamicin compassionate use for French paediatric patients with relapsed or refractory CD22-positive B-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2020; 190 (1): e53–6. DOI: 10.1111/bjh.16732
 16. Brivio E., Locatelli F., Lopez-Yurda M., Malone A., Diaz de Heredia C., Bielora B., et al. A Phase I study of inotuzumab ozogamicin in pediatric relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia (ITCC-059 study). *Blood* 2021; 137 (12): 1582–90.
 17. O'Brien M.M., Ji L., Shah N.N., Rheingold S.R., Bhojwani D., Yuan C.M., et al. Phase II Trial of Inotuzumab Ozogamicin in Children and Adolescents With Relapsed or Refractory B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: Children's Oncology Group Protocol AALL1621. *J Clin Oncol* 2022; 40 (9): 956–67.
 18. [Electronic resource]. URL: https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/ctcae_v5_quick_reference_5x7.pdf (accessed 20.02.2023).
 19. Pennesi E., Michels N., Brivio E., van der Velden V.H.J., Jiang Y., Thanos A., et al. Inotuzumab ozogamicin as single agent in pediatric patients with relapsed and refractory acute lymphoblastic leukemia: results from a phase II trial. *Leukemia* 2022; 36 (6): 1516–24.
 20. Brivio E., Chantrain C.F., Gruber T.A., Thanos A., Rialland F., Contet A., et al. Inotuzumab ozogamicin in infants and young children with relapsed or refractory acute lymphoblastic leukaemia: a case series. *Br J Haematol* 2021; 193 (6): 1172–7.
 21. Маркова И.В., Бондаренко С.Н., Паина О.В., Бабенко Е.В., Гиндина Т.Л., Бархатов И.М. и др. Эффективность и безопасность терапии анти-CD22-моноклональным антителом при рецидивах и рефрактерных формах В-линейного острого лимфобластного лейкоза у детей и взрослых. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2020; 99 (4): 27–34.

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-53-61

Терапия злокачественных лимфопролиферативных заболеваний у пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями с дефектами репарации ДНК

Л.Х. Андержанова, Ю.А. Родина, А.А. Мухина, Ю.Г. Аbugова, Д.С. Абрамов, М.Ю. Алексенко, Л.А. Вавилова, Ю.Ю. Дьяконова, Д.А. Евстратов, Е.В. Райкина, В.В. Фоминых, А.Ю. Щербина, Е.В. Дерипапа, Н.В. Мякова

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

Синдром Ниймеген (СН) и синдром атаксии-телеангиэктазии (АТ; синдром Луи-Бар) относятся к первичным иммунодефицитным состояниям (ПИДС), которые характеризуются нарушением репарации ДНК и хромосомной нестабильностью, приводящими к предрасположенности к различным онкологическим заболеваниям. В данном ретроспективном исследовании описаны особенности течения и терапии 28 случаев злокачественных новообразований (ЗНО) у 14 пациентов с АТ и у 10 пациентов с СН, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России с 01.01.2007 по 31.12.2022. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Среди 14 пациентов с АТ выявлено 16 случаев онкологических заболеваний: 3 случая Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), 2 – В-клеточного ОЛЛ, 6 – зрелых В-клеточных неходжкинских лимфом (В-НХЛ), 2 – лимфомы Ходжкина (ЛХ), 1 – НК/Т-клеточной лимфомы, 1 – Т-лимфобластной лимфомы, 1 – медуллобластомы. Среди 10 пациентов с СН выявлено всего 12 случаев ЗНО: 6 – диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ), 1 – ЛХ, 2 – периферической Т-клеточной лимфомы, 2 – Т-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, 1 – эпителиоидной рабдомиосаркомы. Среди всех ЗНО преобладали зрелые В-НХЛ – 42%, из них чаще всего встречалась ДВККЛ – 91%. Среди всех ПИДС отмечено 4 случая развития второй опухоли: 2 случая у пациентов с АТ, 2 – у пациентов с СН. Диагноз ПИДС до начала терапии ЗНО был заподозрен или подтвержден в 62% случаев у пациентов с АТ, в 100% случаев у пациентов с СН. Терапия проводилась согласно протоколам по нозологическим формам с модификациями доз химиопрепаратов. Среди пациентов с АТ редукция доз химиопрепаратов проводилась в 93% случаев, среди СН – в 80% случаев. Уровень достижения ремиссии был достаточно высоким: пациенты с АТ – 81%, пациенты с СН – 58%. По нашим данным, использование схем терапии с редуцированными дозами химиопрепаратов позволяют получить удовлетворительный профиль токсичности без снижения общей эффективности лечения.

Ключевые слова: дети, иммунодефицит, злокачественные новообразования, синдром атаксии-телеангиэктазии, синдром Ниймеген, лимфома, лейкоз

Андержанова Л.Х. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 53–61. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-53-61

Treatment of lymphoid malignancies in patients with primary immunodeficiencies associated with DNA repair defects

L.Kh. Anderzhanova, Yu.A. Rodina, A.A. Mukhina, Yu.G. Abugova, D.S. Abramov, M.Yu. Aleksenko, L.A. Vavilova, Yu.Yu. Dyakonova, D.A. Evstratov, E.V. Raykina, V.V. Fominykh, A.Y. Shcherbina, E.V. Deripapa, N.V. Myakova

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

Nijmegen breakage syndrome (NBS) and ataxia-telangiectasia (AT; Louis-Bar syndrome) are primary immunodeficiencies (PID) associated with chromosome instability and DNA repair defects that predispose individuals to an increased risk of various malignancies. In our study, we retrospectively analyzed clinical characteristics and outcomes of 28 cancer cases in 14 patients with AT and 10 patients with NBS who had been treated at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology between January 2007 and December 2022. 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. The most common type of malignancy was mature B-cell non-Hodgkin lymphoma (B-NHL) (42%), with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) accounting for 91% of all B-NHL cases. Other cases included T-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL) ($n = 3$), B-cell ALL ($n = 2$), Hodgkin lymphoma ($n = 3$), NK/T-cell lymphoma ($n = 1$), T-cell lymphoblastic lymphoma ($n = 1$), peripheral T-cell lymphoma ($n = 2$), medulloblastoma ($n = 1$) epithelioid rhabdomyosarcoma ($n = 1$), T-cell prolymphocytic leukemia ($n = 2$). A total of 4 patients were diagnosed with second malignancies (2 children with AT and 2 children with NBS). The diagnosis of PID was suspected or confirmed before the initiation of cancer therapy in 62% of AT patients and in 100% of NBS patients. Treatment was given in accordance with standard protocols with chemotherapy dose modifications. A total of 93% of patients with AT and 80% of patients with NBS required dose reduction. The level of response was quite high: 81% of patients with AT and 58% of patients with NBS achieved complete remission. According to our data, the use of reduced-dose chemotherapy regimens helps to achieve an acceptable toxicity profile without reducing the overall effectiveness of treatment.

Key words: children, immunodeficiency, malignant neoplasms, ataxia-telangiectasia syndrome, Nijmegen breakage syndrome, lymphoma, leukemia

Anderzhanova L.Kh. et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 53–61. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-53-61

Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии
2023 | Том 22 | № 1 | 53–61

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 31.01.2023
Принята к печати 20.02.2023

Контактная информация:

Андержанова Лилия Халитовна,
врач-гематолог отделения онкогематологии
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: anderliliya@gmail.com

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 31.01.2023
Accepted 20.02.2023

Correspondence:

Lilia Kh. Anderzhanova,
a hematologist at the Oncohematology
Department of the Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology, Immunology, Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: anderliliya@gmail.com

Иммунодефицит с атаксией-телеангиэктазией (АТ) и синдром Ниймеген (СН) относятся к комбинированным первичным иммунодефицитным состояниям (ПИДС) с аутосомно-рецессивным типом наследования и характеризуются нарушением репарации ДНК и хромосомной нестабильностью (ХН) [1, 2]. Молекулярно-генетические особенности данных синдромов приводят к предрасположенности к развитию онкологических заболеваний не только в связи с наличием Т-клеточных дефектов, но и в связи с дефектами клеточного ответа на мутационные повреждения. Данные заболевания занимают лидирующую позицию по частоте развития злокачественных новообразований (ЗНО) среди всех видов ПИДС [3]. Общая частота опухолевых заболеваний при АТ составляет примерно 25%, при этом преобладающими являются лимфо-пролиферативные заболевания (ЛПЗ) [4–8]. Среди всех онкологических заболеваний у пациентов с АТ неходжкинские лимфомы (НХЛ) составляют около 40%, острые лимфобластные лейкозы (ОЛЛ) – 20%, лимфомы Ходжкина (ЛХ) – 10%, остальные 30% приходятся на нелимфо-пролиферативные ЗНО [4, 9, 10]. У пациентов с АТ описаны случаи редко встречающегося в детской популяции Т-клеточного пролимфоцитарного лейкоза [11, 12].

Онкологическая заболеваемость при СН еще выше: более 40% пациентов с СН к 20 годам развивают ЗНО, в основном ЛПЗ [13, 14]. У детей с СН преобладают диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВККЛ), Т-лимфобластные лимфомы (Т-ЛБЛ) [15–17]. Интересно, что для пациентов с АТ и СН нехарактерно развитие острого миелоидного лейкоза [6, 17].

Исторически считалось, что пациенты с дефектами репарации ДНК при развитии онкопатологии имеют плохой прогноз, во многом обусловленный развитием у них токсичности при проведении полихимиотерапии (ПХТ) и облучения в ходе лечения ЗНО [4]. В настоящее время единых подходов и протоколов терапии ЗНО у пациентов с дефектами репарации ДНК не существует. В данном исследовании мы проанализировали нашу серию случаев с оценкой эффективности и токсичности проводимой ПХТ у пациентов с СН и АТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ретроспективное исследование было проведено на базе ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, включало 14 пациентов с АТ и 10 пациентов с СН, которые наблюдались и полностью завершили терапию ЗНО в период с 01.01.2007 по 31.12.2022. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением

ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Диагноз соответствующего ПИДС был установлен на основании диагностических критериев Европейского общества по изучению иммунодефицитов (European Society for Immunodeficiencies) и во всех случаях подтвержден молекулярно-генетическим методом.

Диагноз лимфомы устанавливался на основании морфологического, гистологического и иммуногистохимического исследований субстрата. Стадирование зрелых В-клеточных лимфом, лимфобластных лимфом, NK/Т-клеточных лимфом, периферических Т-клеточных лимфом проводилось по системе Murphy (St. Jude Children's Research Hospital). Стадирование ЛХ и в некоторых случаях периферических Т-клеточных лимфом осуществлялось по системе Ann Arbor.

Определение стадии лимфомы проводилось по результатам инструментальных исследований. Диагноз острого лейкоза устанавливался путем цитологического и цитохимического исследований мазков костного мозга с морфологической оценкой согласно классификации FAB (French–American–British). Иммунофенотипирование бластных клеток в костном мозге проводилось методом проточной цитометрии.

Основой терапии зрелых В-НХЛ являлись модифицированные BFM-ориентированные протоколы: non-Hodgkin lymphoma Berlin–Frankfurt–Münster-95: ataxia-telangiectasia/Nijmegen breakage syndrome (NHL-BFM 95: AT/NBS), В-НХЛ 2010M. Пациенты с ЛХ получали терапию, основанную на исследованиях GPOH-HD-2002 (German Society of Pediatric Oncology and Hematology-Hodgkin's Disease) и EuroNet-phl-c1 (EuroNet-Paediatric Hodgkin's Lymphoma Group). Пациенты с периферическими Т-клеточными лимфомами и Т-клеточным пролимфоцитарным лейкозом получали непрограммную терапию, так как стандарты лечения не разработаны. Терапия ОЛЛ проводилась на основании модифицированных протоколов Acute Lymphoblastic Leukemia Moscow–Berlin 2008 (ALL-MB 2008), ALL-MB 2015. Применялись редукции доз препаратов и интенсификация терапии при отсутствии ответа на нее. Во всех случаях ответ на терапию оценивали по стандартным критериям эффективности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди 14 пациентов с АТ было выявлено 16 случаев онкологических заболеваний: 3 – Т-клеточных ОЛЛ, 2 – В-клеточных ОЛЛ, 6 – зрелых В-НХЛ, 2 – ЛХ, 1 – NK/Т-клеточной лимфомы, 1 – Т-ЛБЛ, 1 – медуллобластомы. У 1 пациента развилась вторая опухоль – В-НХЛ. Среди 10 пациентов с СН выявлено 12 случаев ЗНО: 6 – ДВККЛ, 1 – ЛХ, 2 – периферической Т-клеточной лимфомы, 2 – Т-клеточного

пролимфоцитарного лейкоза, 1 – эпителиоидной рабдомиосаркомы. Среди всех ЗНО в 2 группах пациентов преобладали зрелые В-НХЛ – 43% (12/28), из них чаще всего встречалась ДВККЛ – 91% (11/12) (таблица, рисунок 1). Соотношение мальчиков и девочек составило 1:1. Медиана возраста дебюта онкологического заболевания – 6,5 года (разброс от 1 до 13 лет). В большинстве случаев диагноз ПИДС был заподозрен или установлен до начала терапии ЗНО: в 62% (10/16) случаев у пациентов с АТ, в 100% (12/12) – у пациентов с СН. В 3 случаях диагноз ПИДС был заподозрен в связи с возникновением токсичности проводимой химиотерапии (ХТ) у пациентов с последующим диагнозом АТ (таблица). У всех наблюдавшихся пациентов с лимфомами были продвинутые стадии заболевания – III–IV (таблица). Отмечено 4 случая развития второй опухоли: 2/16 (13%) случаев у пациентов с АТ, 2/12 (17%) – у пациентов с СН (рисунок 2).

Среди пациентов с АТ редукция доз химиопрепаратов проводилась в 93% (14/15) известных случаев, среди СН – в 80% (8/10) известных случаев (таблица). Инициальная редукция доз среди пациентов с АТ проводилась в 53% (8/15) случаев, среди пациентов с СН – в 60% (6/10). Редукция в связи с возникшей токсичностью преобладала среди детей с АТ – 73% (11/15), у пациентов с СН она составила 50% (5/10) (рисунок 3). Одним и тем же пациентам могла проводиться как инициальная редукция доз химиопрепаратов, так и дополнительно – в связи с токсичностью проводимой терапии. Уровень достижения ремиссии был достаточно высоким как среди пациентов с АТ – 81% (13/16), так и среди пациентов с СН – 58% (7/12) (рисунок 4). Зафиксирован 1 случай рецидива ОЛЛ у пациента с АТ (рисунок 4А), среди пациентов с СН рецидивов ЗНО не было (рисунок 4Б). Летальность из-за прогрессии ЗНО составила 60% (3/5) у пациентов с АТ и 71% (5/7) – у пациентов с СН. В 1 случае наблюдалась летальность из-за посттерапевтических инфекционно-токсических осложнений и прогрессии лимфомы Беркитта (ЛБ) (таблица).

Терапия зрелых В-клеточных неходжкинских лимфом, ее токсичность и исходы у пациентов с синдромом Ниймеген

Среди пациентов с СН и зрелой В-НХЛ у 5 человек была диагностирована ДВККЛ. У 1 ребенка она развивалась повторно через 7 лет после достижения ремиссии первого случая. В терапии зрелых В-НХЛ использовались адаптированные стандартные блоки ХТ для зрелоклеточных В-клеточных лимфом с применением анти-CD20-моноклонального антитела ритуксимаб. Четверем пациентам с В-НХЛ проводилась модификация доз ХТ: инициальная редукция доз и редукция в связи с токсичностью. Дозировки

ХТ 1 пациента неизвестны. Всем больным диагноз СН был установлен или заподозрен до начала терапии лимфомы, что позволило заранее определить тактику лечения.

Модификации в терапии могли включать в себя редукцию доз метотрексата на 50% (0,5 г/м² вместо 1 г/м²) или его полную отмену, винкристина на треть или также отмену, алкилирующих агентов на 50% и более, производных подофиллотоксинов (этопозид), антрациклинов (даунорубин) на 50%. Пациенту с развившейся второй опухолью (ДВККЛ), учитывая рефрактерное течение и невозможность проведения интенсивных блоков ПХТ из-за высокого риска развития осложнений, выполнялась терапия блоком рецепторов PD1 – ниволумабом. У другого пациента в связи с отсутствием ответа на терапию применялся конъюгат анти-CD30-моноклонального антитела и монометилауристатина – брентуксимаба ведотина совместно с высокодозной ХТ (блок ICE) и ритуксимабом. У всех детей наблюдались инфекционные и токсические осложнения в межблоковый период: энтероколит, мукозит, пневмония, бронхит. У всех была достигнута ремиссия основного заболевания.

Терапия зрелых В-клеточных неходжкинских лимфом, ее токсичность и исходы у пациентов с атаксией-телеангиэктазией

Среди пациентов с АТ у 6 человек наблюдалось течение В-НХЛ: у 5 – ДВККЛ, у 1 – ЛБ. Применяемое лечение было идентичным терапии пациентов с СН со зрелой В-НХЛ.

Диагноз АТ до начала терапии лимфомы был установлен 5 пациентам. Одному ребенку диагноз лимфомы был установлен после окончания лечения медуллобластомы, а диагноз АТ – только на фоне возникших осложнений терапии лимфомы в возрасте 5 лет. Другому ребенку диагноз ПИДС был установлен тоже только после развития второй опухоли.

Четверем пациентам проводилась инициальная редукция доз ХТ, она была аналогичной пациентам с СН, также в некоторых случаях в терапии не использовался ифосфамид. Одному из них специфическая терапия была прервана в связи с эпизодом клинической смерти, но ремиссия заболевания была достигнута. Пациенту с АТ и ЛБ модификация доз ХТ проводилась ввиду тяжелых осложнений: развитие мукозита III–IV степени, тяжелого гастроэнтероколита, сепсиса, сопора, метотрексатозного дерматита.

У 5 из 6 пациентов была достигнута ремиссия. Двое умерли от инфекционных осложнений, 1 – от прогрессии второй опухоли – лимфомы с присоединившимися инфекционно-токсическими осложнениями на фоне ХТ.

Таблица
Пациенты с ПИДС и лимфопролиферативными ЗНО

Table
Patients with primary immunodeficiencies and lymphoid malignancies

Случай ЗНО Case of ma- lig- nancy	Паци- ент Pa- tient	Пол Gender	Возраст постановки онколого- диагноза, годы Age at cancer diagnosis, years	Диагноз Diagnosis	Ста- дия Stage	Терапия Treatment	Редук- ция доз ПХТ chemo- therapy dose re- duction	Иници- альная редук- ция доз Initial dose re- duction	Редук- ция в связи с токсич- ностью Dose re- duction due to toxicity	Осложнения Complications	ТГСК HSCT	Исход Outcome	Воз- раст смер- ти Age at death	Причина смерти Cause of death
1					6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1	Жен- ский Female	9	ДВККЛ DLBCL	IV	NHL-BFM 95: циторедукция – А (без метотрексата, винкристин 1 мг/м ² , циклофосфамид 100 мг/м ² , цитозар 75 мг/м ²) – В0.5 – А1 – СС – ICE – ICE – брентуксимаб ведотин NHL-BFM 95: cytorreduction – A (without methotrexate, vincristine 1 mg/m ² , cyclophosphamide 100 mg/m ² , Cytosar 75 mg/m ²) – B0.5 – A1 – CC – ICE – ICE – brentuximab vedotine	Да Yes	Да Yes	Нет No	ИБЛ, гемофагоцитар- ный синдром, энтеро- колит ILD, hemophagocytic syndrome, enterocolitis	Да Yes	Ремиссия, смерть Remission, death	9 лет 9 years	Посттранс- плантационные осложнения Post-transplant complications
2	2	Жен- ский Female	13	ДВККЛ DLBCL	III	NHL-BFM 95: циторедукция – А0 – В2 – А2 – В2 + ритуксимаб NHL-BFM 95: cytorreduction – A0 – B2 – A2 – B2 + rituximab	Да Yes	Да Yes	Нет No	Энтероколит, мукозит enterocolitis, mucositis	Да Yes	Ремиссия, смерть Remission, death	18 лет 18 years	Посттранс- плантационные осложнения Post-transplant complications
3	3	Муж- ской Male	6	Т-клеточный пролимфоци- тарный лейкоз T-cell prolymphocytic leukemia		Алемтузумаб, пентостатин Alemtuzumab, pentostatin	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No	Прогрессия, смерть Progression, death	7 лет 7 years	Прогрессия Progression
4	4	Жен- ский Female	7	ДВККЛ DLBCL	III	Непрограммная терапия: циторе- дукция – СНОР – А0 – В2 – СС – А2 – В2 Out-of-protocol treatment: cytorreduction – СНОР – А0 – В2 – CC – A2 – B2	Нет дан- ных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет No	Ремиссия, жив, отказ от ТГСК Remission, alive, refuse of HSCT	–	–
5	5	Муж- ской Male	5	Перифериче- ская Т-клеточ- ная лимфома Peripheral T-cell lymphoma	III	Непрограммная терапия: цито- редукция – СНОР(4) – А1 – роми- депсин – ПХТ (цисплатин, этопозид, гемцитабин) Out-of-protocol treatment: cytorreduction – СНОР(4) – A1 – romidepsin – chemotherapy (cisplatin, etoposide, gemcitabine)	Да Yes	Да Yes	Нет No	Мукозит, энтероколит, пневмония, бронхит Mucositis, enterocolitis	Нет No	Прогрессия, смерть Progression, death	Нет дан- ных No data	Прогрессия Progression
6	6	Жен- ский Female	4	Перифериче- ская Т-клеточ- ная лимфома Peripheral T-cell lymphoma	III	Непрограммная терапия: СНОР(5) – СОР – дексаметазон + метотрексат + пегаспаргасе 1000 Ед/м ² – АА – ВВ Out-of-protocol treatment: СНОР(5) – COP – dexamethasone + methotrexate + pegaspargase 1000 U/m ² – AA – BB	Да Yes	Нет No	Да Yes	ЗБВ-виремия, эрозив- ный эзофагит, синко- пальное состояние, пневмония, грибковый синусит, тромбоз под- вздошной вены EBV viremia, erosive esophagitis, syncope condition, pneumonia, fungal sinusitis, iliac vein thrombosis	Да Yes	Прогрессия, смерть Progression, death	5 лет 5 years	Прогрессия Progression

Рисунок 1
Характеристика ЗНО среди пациентов с СН и пациентов с АТ

Figure 1
Types of malignant diseases in the patients with Nijmegen breakage syndrome (NBS) and ataxia-telangiectasia (AT)

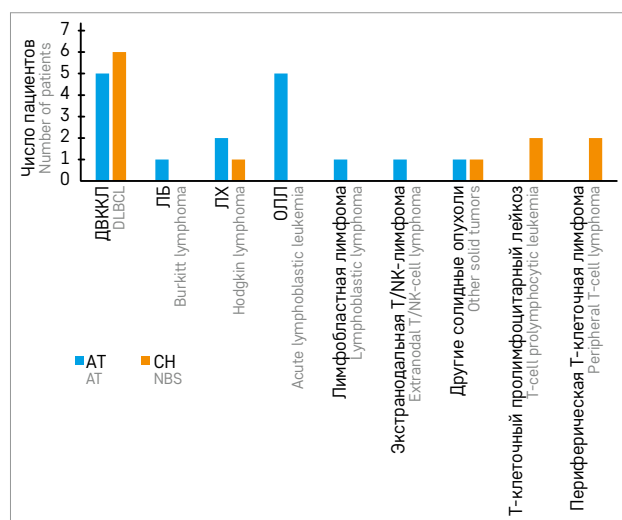
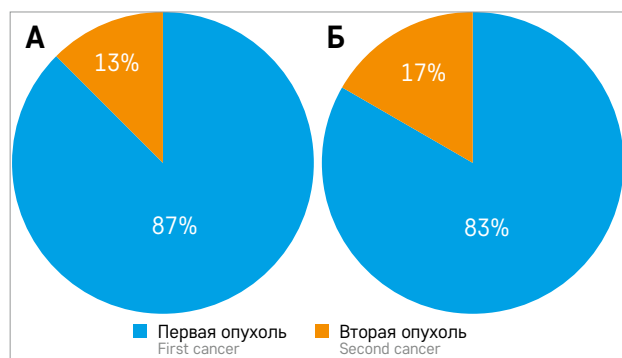


Рисунок 2
Частота первых и вторых опухолей у пациентов с АТ (А) и СН (Б)

Figure 2
The incidence of the first and second cancers in the patients with AT (A) and NBS (B)



Терапия НК/Т-клеточной лимфомы, ее токсичность и исходы у пациентки с атаксией-телеангиэктазией

У 1 пациентки с АТ в возрасте 10 лет была диагностирована НК/Т-клеточная лимфома III стадии с массивным поражением подкожной жировой клетчатки. Терапией выбора, исходя из данных литературы, стал блок DDGP (цисплатин, дексаметазон, гемцитабин, пэгаспаргаза). Дозы ХТ были редуцированы по токсической площади поверхности тела в связи с нутритивной недостаточностью. Лечение привело к выраженному нарастанию неврологического дефицита, развитию пневмонии, что потребовало преждевременной отмены ХТ и перехода на более щадящие режимы. Далее терапия была продолжена mTOR-ингибитором эверолимусом в монорежиме. Ремиссия не была достигнута, пациентка умерла от прогрессии лимфомы.

Рисунок 3
Редукция доз химиопрепаратов у пациентов с АТ и СН

Одним и тем же пациентам могла проводиться как инициальная редукция доз, так и дополнительно – в связи с токсичностью проводимой терапии

Figure 3
Chemotherapy dose reductions in the patients with AT and NBS
Some patients required both initial dose reduction and dose reduction due to toxicity of treatment

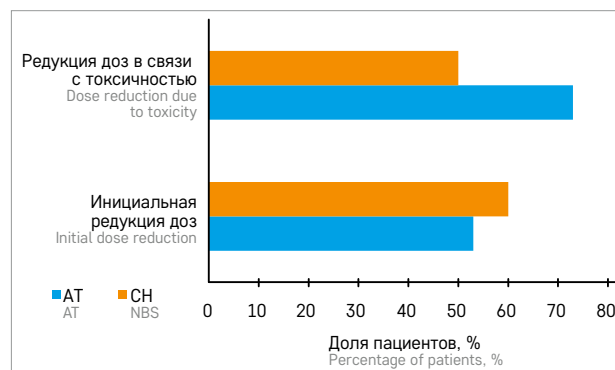
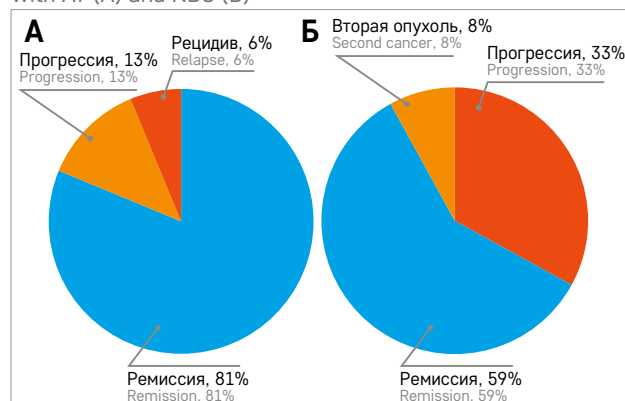


Рисунок 4
Ответ на терапию ЗНО у пациентов с АТ (А) и СН (Б)

Figure 4
Response to cancer treatment in the patients with AT (A) and NBS (B)



Терапия лимфомы Ходжкина, ее токсичность и исходы у пациентов с атаксией-телеангиэктазией и синдромом Ниймеген

Диагноз классической ЛХ был установлен 3 пациентам. Диагноз ПИДС во всех случаях был известен до начала противоопухолевой терапии. Лечение проводилось на базе стандартного протокола для ЛХ: блоки ПХТ ОЕРА (винкристин, этопозид, преднизолон, адриамицин) и COPDAC (циклофосфамид, винкристин, преднизолон, дакарбазин). Пациентам в каждом блоке инициально проводилась редукция доз ХТ: винкристина на 30% или полная отмена, циклофосфамида на 30%, этопозид на 25%, адриамицина на 30%, дакарбазина на 50%. У 1 пациента с АТ в качестве компенсации редукции ХТ применялась терапия брентуксимабом ведотином. У 1 ребенка с СН отмечено развитие остеонекроза, в связи с чем терапия блоками была приостановлена и переключена на монотерапию.

чена на применение брентуксимаба ведотина. Ни в одном случае тяжелых инфекционных осложнений на фоне терапии не наблюдалось и у всех пациентов была достигнута ремиссия заболевания.

Терапия острого лейкоза, ее токсичность и исходы у пациентов с атаксией-телеангиэктазией и синдромом Ниймеген

Основой терапии ОЛЛ у пациентов с АТ являлись модифицированные протоколы ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015. Двум из 4 пациентов с ОЛЛ диагноз АТ был установлен после развития лейкоза. Этим пациентам терапия была начата в полной дозе и в последующем проводилась редукция доз в связи с токсичностью. Препараты, к которым применялась редукция доз: винкристин, метотрексат, 6-меркаптопурин, антрациклины. Все пациенты достигли ремиссии. Один пациент умер в связи с развитием сверххранного рецидива. У 2 детей с СН был диагностирован редко встречающийся в педиатрической практике острый пролимфоцитарный лейкоз. Терапия проводилась ингибитором аденозиндезаминазы – пентостатином и моноклональным антителом к CD52 – алемтузумабом, также в 1 случае применялся селективный ингибитор семейства Янус-киназа (JAK) – тофацитиниб. Ремиссии в обоих случаях достигнуть не удалось.

Терапия лимфобластной лимфомы, ее токсичность и исходы у пациента с атаксией-телеангиэктазией

Одному пациенту с Т-ЛБЛ III стадии диагноз АТ был установлен уже на фоне противоопухолевой терапии. Лечение включало в себя BFM-адаптированную терапию для лимфобластных лимфом (BFM-LMB). Модификация доз ХТ была связана с развитием выраженного неврологического дефицита и инфекционных осложнений, таких как пневмония, энтероколит. Была достигнута ремиссия заболевания.

Терапия периферической Т-клеточной лимфомы, ее токсичность и исходы у пациентов с синдромом Ниймеген

Отмечено 2 случая развития периферической Т-клеточной лимфомы среди пациентов с СН. Терапия начиналась без редукции доз блоком СНОР (циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизолон), далее в связи с прогрессией лимфомы потребовалось перейти на следующие линии терапии – блоки ХТ А1, АА, ВВ, ХТ в составе цисплатина, этопозиды, гемцитабина. Диагноз ПИДС был установлен до начала терапии лимфомы. В обоих случаях исход заболевания был неблагоприятным из-за прогрессии ЗНО.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на принадлежность СН и АТ к одной группе заболеваний – ПИДС с дефектом репарации ДНК – мы наблюдали гетерогенность форм ЗНО в 2 группах пациентов. В обеих группах преобладали ЛПЗ, среди них большую часть составляли ДВККЛ. Помимо ДВККЛ в группе пациентов с АТ преобладали ОЛЛ, в то время как в группе пациентов с СН в данном исследовании случаев ОЛЛ не встречалось. Также среди детей с СН выявлены редко встречающиеся в детской популяции Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз и периферическая Т-клеточная лимфома.

Проведение ХТ у пациентов с дефектами репарации ДНК и другими ПИДС сопряжено с высокими рисками развития жизнеугрожающих инфекционно-токсических осложнений. Осведомленность о характерных особенностях у таких пациентов позволяет при лечении ЗНО избегать рисков тяжелых осложнений. Выбор тактики противоопухолевой терапии зачастую осуществляется не только в зависимости от клинической ситуации и преморбидного статуса, но и вида ПИДС.

В литературе описаны общие подходы по модификации ХТ у этой группы пациентов. Германско-австрийская группа по терапии НХЛ предлагает в своих протоколах редуцировать дозы метотрексата, алкилирующих агентов и производных эпиподофиллотоксинов [18]. В связи с повышенной чувствительностью к радиационному воздействию и радиомиметикам в отношении пациентов с ХН ограничивают дозы излучения и не применяют данную группу препаратов (блеомицин) [19]. Пациентам с ХН рекомендовано ограничивать терапию ингибиторами топоизомеразы II (эпиподофиллотоксины, антрациклины), препятствующими фермент-опосредованному связыванию ДНК, что вызывает накопление разрывов двойной цепи [17]. По данным наших наблюдений, в большинстве случаев терапия зрелых НХЛ сопровождалась редукцией доз химиопрепаратов согласно вышеупомянутым рекомендациям. Также эффективным способом предотвратить химиоиндуцированную токсичность и достичь ремиссии у пациентов с ХН является применение таргетной терапии – моноклональных антител и ингибиторов контрольных точек иммунного ответа в режиме монотерапии или в сочетании с низкодозной ХТ [20–23]. В нашем исследовании, в частности, было продемонстрировано эффективное применение таких препаратов как ритуксимаб, брентуксимаб ведотин, ниволумаб, алемтузумаб.

На сегодняшний день нет общепринятых четких критериев и рекомендаций по терапии онкогематологических заболеваний у пациентов с ХН. Ввиду

орфанности данных нозологий в литературе редко встречаются работы по этой теме. Большинство опубликованных исследований были проведены с включением смешанных групп пациентов с АТ и СН. В 2011 г. проанализированы исходы терапии онкогематологических заболеваний у пациентов с СН ($n = 19$) и с АТ ($n = 19$). Выявлено, что редукция доз химиопрепаратов снижает токсичность терапии и не оказывает негативного влияния на исход заболевания. Применение риск-адаптированной терапии позволило достичь ремиссии более чем в 50% случаев [23]. В другом опубликованном исследовании, куда были включены пациенты только с СН, наоборот, показано, что частота возникновения тяжелой токсичности сопоставима между группой больных, которые получали менее 80% дозы препарата, и теми, кто получал более 80% дозы [17].

Большинство наших пациентов получали редуцированные дозы ХТ изначально или ввиду токсичности (АТ – 93%, СН – 80%). В данном исследовании невозможно сравнить эффективность терапии ЗНО с редукцией доз химиопрепаратов и без нее. Для сравнения разных подходов к терапии необходимо проведение рандомизированного проспективного исследования. По нашим результатам, пациентам с АТ чаще требовалась редукция доз ХТ (73%) в связи с возникшей токсичностью в отличие от пациентов с СН (50%). Прослеживается, что переносимость ХТ у пациентов с СН лучше, чем у пациентов с АТ. Практически все больные получали заместительную терапию внутривенным иммуноглобулином, что, вероятнее всего, позволило избежать развития тяжелых инфекционно-токсических осложнений.

В нашем исследовании уровень ремиссии высокий как среди детей с синдромом АТ – 81%, так и среди пациентов с СН – 58%. Возможно, различия в значениях ремиссии у пациентов связаны с гетерогенностью ЗНО в этих группах. Среди ДВККЛ во всех случаях была достигнута ремиссия – как у пациентов с СН, так и с АТ. Основная доля прогрессий в группе пациентов с СН приходилась на Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, который обладает крайне неблагоприятным прогнозом в детской популяции.

В целом использование схем терапии с редуцированными дозами химиопрепаратов позволяет получить удовлетворительный профиль токсичности без снижения общей эффективности лечения. А. Pastorcak и соавт. (Польша) опубликовали свой алгоритм терапевтических подходов для пациентов с СН и ЛПЗ. Они предлагают начинать противоопухолевую терапию стандартными дозами ХТ и проводить редукцию только при наличии тяжелой токсичности IV степени [24].

Проведение ХТ пациентам с ХН и иммунодефицитами имеет определенные особенности, связанные в первую очередь с повышенным риском осложнений, которые могут препятствовать соблюдению тайминга терапии и компрометировать результаты. Кроме того, для снижения вероятности развития второй гематологической опухоли у пациентов с СН рекомендуется проводить аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток после достижения первой ремиссии ЗНО [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши наблюдения показали, что диагноз ПИДС зачастую был заподозрен или подтвержден до начала терапии ЗНО: в 62% случаев при АТ, в 100% – при СН. Это позволило выбрать тактику терапии с инициальной редукцией доз химиопрепаратов и, скорее всего, избежать летальности из-за токсичности. В 3 случаях среди детей с АТ диагноз ПИДС был заподозрен уже на фоне проявляемой высокой токсичности ХТ. Запоздывание диагноза ПИДС можно объяснить отсутствием настороженности по отношению к этим заболеваниям. Применение стандартных протоколов лечения, например, с лучевой терапией, может привести к летальному исходу, поэтому важно исключать или подтверждать ПИДС у ребенка до начала специфической терапии ЗНО. Для достижения результата при лечении ЗНО у пациентов с ПИДС требуются подтверждение диагноза иммунодефицита, интенсивная сопроводительная терапия и обязательное взаимодействие детского онколога-гематолога, иммунолога и трансплантолога.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Anderzhanova L.Kh. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3247-8688>
Rodina Yu.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9857-4456>
Mukhina A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3305-1694>
Abugova Yu.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5201-6475>
Abramov D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3664-2876>
Alexenko M.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2521-5353>
Vavilova L.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7959-3512>
Dyakonova Yu.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8725-7532>
Evstratov D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2801-7421>
Raykina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>
Fominykh V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2294-0821>
Shcherbina A.Y. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3113-4939>
Deripapa E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9083-4783>
Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Литература

- Petley E., Yule A., Alexander S., Ojha S., Whitehouse W.P. The natural history of ataxia-telangiectasia (A-T): A systematic review. *PLoS One* 2022; 17 (3): e0264177.
- Kondratenko I., Paschenko O., Pol-yakov A., Bologov A. Nijmegen breakage syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2007; 601: 61–7.
- Дерипапа Е.В., Шве́ц О.А., Абрамов Д.С., Мякова Н.В., Щербина А.Ю. Анализ частоты развития лимфом у детей с первичными иммунодефицитными состояниями. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016; 15 (1): 61–5.
- Асекретова Т.В., Андержанова Л.Х., Леонтьева М.Е., Родина Ю.А., Панферова А.В., Алексенко М.Ю. и др. Характеристика клинических и лабораторных проявлений в группе пациентов с синдромом атаксии-телеангиэктазии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2022; 21 (3): 47–55.
- Suarez F., Mahlaoui N., Canioni D., Andriamanga C., Dubois d'Enghien C., Brousse N., et al. Incidence, presentation, and prognosis of malignancies in ataxia-telangiectasia: a report from the French national registry of primary immune deficiencies. *J Clin Oncol* 2015; 33 (2): 202–8.
- Taylor A.M., Metcalfe J.A., Thick J., Mak Y.F. Leukemia and lymphoma in ataxia telangiectasia. *Blood* 1996; 87: 423–8.
- Sandoval C., Swift M. Treatment of lymphoid malignancies in patients with ataxia-telangiectasia. *Med Pediatr Oncol* 1998; 31: 491–7.
- Sandoval C., Swift M. Hodgkin disease in ataxia-telangiectasia patients with poor outcomes. *Med Pediatr Oncol* 2003; 40: 162–6.
- Morrell D., Chase C.L., Swift M. Cancers in 44 families with ataxia-telangiectasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1990; 50: 119–23.
- Spector B.D., Filipovitch A.H., Perry III G.S., Kersey J.H. Epidemiology of cancer in ataxia-telangiectasia. In: Harnden D.G., Bridges B.A. (eds.) *Ataxia-Telangiectasia*. Wiley, Chichester; 1982. Pp. 103.
- Matutes E., Brito-Bapapulle V., Swansbury J., Ellis J., Morilla R., Dearden C., et al. Clinical and laboratory features of 78 cases of T-prolymphocytic leukemia. *Blood* 1991; 78: 3269–74.
- Taylor A.M., Metcalfe J.A., Thick J., Mak Y.F. Leukemia and lymphoma in ataxia telangiectasia. *Blood* 1996; 87: 423–38.
- Дерипапа Е.В., Родина Ю.А., Лаберко А.Л., Балашов Д.Н., Мякова Н.В., Зимин С.Б. и др. Синдром Ниймеген у детей: клинико-лабораторная характеристика и оценка эффективности различных видов терапии. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2018; 97 (4): 116–24.
- Krüger L., Demuth I., Neitzel H., Varon R., Sperling K., Chrzanowska K.H., et al. Cancer incidence in Nijmegen breakage syndrome is modulated by the amount of a variant NBS protein. *Carcinogenesis* 2007; 28 (1): 107–11.
- Gladkowska-Dura M., Dzierzanowska-Fangrat K., Dura W.T., van Krieken J.H., Chrzanowska K.H., van Dongen J.J., et al. Unique morphological spectrum of lymphomas in Nijmegen breakage syndrome (NBS) patients with high frequency of consecutive lymphoma formation. *J Pathol* 2008; 216 (3): 337–44. DOI: 10.1002/path.2418
- Seidemann K., Tiemann M., Henze G., Sauerbrey A., Müller S., Reiter A. Therapy for non-Hodgkin lymphoma in children with primary immunodeficiency: analysis of 19 patients from the BFM trials. *Med Pediatr Oncol* 1999; 33 (6): 536–44.
- Dembowska-Baginska B., Perek D., Brozyna A., Wakulinska A., Olczak-Kowalczyk D., Gladkowska-Dura M., et al. Non-Hodgkin lymphoma (NHL) in children with Nijmegen Breakage syndrome (NBS). *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52 (2): 186–90.
- Seidemann K., Henze G., Beck J. D., Sauerbrey A., Kühl J., Mann G., et al. Non-Hodgkin's lymphoma in pediatric patients with chromosomal breakage syndromes (AT and NBS): experience from the BFM trials. *Ann Oncol* 2000; 11 Suppl 1: 141–5.
- Perez-Vera P., Gonzalez-del Angel A., Molina B., Gomez L., Frias S., Gatti R.A., et al. Chromosome instability with bleomycin and X-ray hypersensitivity in a boy with Nijmegen breakage syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 70 (1): 24–7.
- Kropshofer G., Wehl G., Klein-Franke A., Högl W., Meister B. B-cell lymphoma in a girl with ataxia telangiectasia (A-T) treated with rituximab monotherapy. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46: 528–9.
- Rossi G., Zecca M., Marchi A., de Stefano P., Sammarchi L., Locatelli F. Modified chop-chemotherapy plus rituximab for diffuse large b-cell lymphoma complicating ataxia-telangiectasia. *Br J Haematol* 2003; 120: 369–71.
- Shabbat S., Aharoni J., Sarid L., Ben-Harush M., Kapelushnik J. et al. Rituximab as monotherapy and in addition to reduced CHOP in children with primary immunodeficiency and non-Hodgkin lymphoma. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52: 664–6.
- Bienemann K., Burkhardt B., Modlich S., Meyer U., Möricke A., Bienemann K., et al. Promising therapy results for lymphoid malignancies in children with chromosomal breakage syndromes (ataxia telangiectasia or Nijmegen-breakage syndrome): A retrospective survey. *Br J Haematol* 2011; 155: 468–76.
- Pastorcak A., Szczepanski T., Mlynarski W.; International Berlin-Frankfurt-Munster (I-BFM) ALL host genetic variation working group. Clinical course and therapeutic implications for lymphoid malignancies in Nijmegen breakage syndrome. *Eur J Med Genet* 2016; 59 (3): 126–32. DOI: 10.1016/j.ejmg.2016.01.007

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 31.01.2023
Принята к печати 20.02.2023

Контактная информация:
Вавилова Людмила Александровна,
врач-детский онколог отделения
онкогематологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им.
Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: ludmila.vavilova@fccho-moscow.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-62-72

Роль блинатумомаба в лечении В-клеточных рецидивов острого лимфобластного лейкоза у детей: собственный опыт применения

Л.А. Вавилова, Ю.Ю. Дьяконова, О.И. Быданов, Н.В. Мякова, Ю.Г. Аbugова, Л.Х. Андержанова, Д.А. Евстратов, Е.Е. Курникова, А.М. Попов, Ю.В. Ольшанская, М.А. Масчан, Л.Н. Шелихова, Д.В. Литвинов, А.В. Попа, А.И. Карачунский

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

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) является самым распространенным онкологическим заболеванием у детей. Несмотря на значимые улучшения в терапии ОЛЛ за последние годы, лечение рецидивов остается проблемой, сохраняется плохой прогноз с высокой частотой развития рефрактерности к терапии и высокой смертностью. Новые иммунотерапевтические подходы к лечению ОЛЛ изменили результаты и прогноз таких пациентов. Блинатумомаб, представляющий собой биспецифическое антитело, селективно связывающееся с антигеном CD19, экспрессируемым на поверхности В-клеток, и антигеном CD3, экспрессируемым на поверхности Т-клеток, показал свою эффективность в терапии рецидивов В-клеточного ОЛЛ, особенно в качестве «мостика» для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Результаты лечения пациентов группы высокого риска остаются далекими от оптимальных из-за рефрактерности к химиотерапии, ее высокой токсичности и летальных исходов от инфекционных осложнений. В данной статье представлены результаты нашего опыта применения блинатумомаба у детей с рецидивами В-клеточного ОЛЛ, получавших терапию в рамках группы высокого риска по протоколу ALL-REZ 2016. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Продемонстрированы эффективность и токсичность блоков с применением флударабина и клофарабина с последующей инфузией блинатумомаба. Показана эффективность инфузии аутологичных CD3⁺-лимфоцитов 1 раз в неделю во время непрерывной терапии блинатумомабом. Также представлены результаты применения блинатумомаба для лечения пациентов с рефрактерным к терапии 1-й линии рецидивирующим В-клеточным ОЛЛ и пациентов со вторым рецидивом ОЛЛ. Терапия 1-й линии у этих пациентов проводилась по протоколу ALL-REZ 2014. Наши результаты показали снижение минимальной остаточной болезни у пациентов с рефрактерным рецидивирующим В-клеточным ОЛЛ, а также увеличение бессобытийной выживаемости у детей с рецидивирующим В-клеточным ОЛЛ группы высокого риска.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, рецидив, дети, терапия, блинатумомаб

Вавилова Л.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 62–72. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-62-72

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 31.01.2023
Accepted 20.02.2023

The role of blinatumomab in the treatment of B-cell relapses of acute lymphoblastic leukemia in children: own experience

L.A. Vavilova, Yu.Yu. Dyakonova, O.I. Bydanov, N.V. Myakova, Yu.G. Abugova, L.Kh. Anderzhanova, D.A. Evstratov, E.E. Kurnikova, A.M. Popov, Yu.V. Olshanskaya, M.A. Maschan, L.N. Shelikhova, D.V. Litvinov, A.V. Popa, A.I. Karachunskiy

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

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common malignancy in children. Despite remarkable improvements in the treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia over last years, relapse still carries a poor prognosis with considerable morbidity and mortality. New immunotherapeutic approaches will change the way we treated our patients and the results we had. Blinatumomab is a bispecific T-cell-engaging antibody indicated for the treatment of relapsed/refractory B-cell lymphoblastic leukemia. The use of Blinatumomab in relapsed B-cell ALL has shown promising effects, especially as a bridging tool to hematopoietic stem cell transplantation. The therapy results for patients in the high risk group remain far from optimal due to refractoriness to chemotherapy, death from infectious complications, as well as acute chemotherapy toxicity. This article demonstrates the results of our experience of using Blinatumomab in children with the high-risk group relapsed B-cell ALL treated according to the ALL-REZ 2016 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. The efficacy and toxicity of innovational blocks with the use of fludarabine and clofarabine with subsequent Blinatumomab infusion are shown. And we present the efficacy of autologous CD3⁺ lymphocytes infusion once a week during the continuous blinatumomab therapy. Also we demonstrate the results of using Blinatumomab for the treatment of patients with refractory to the first line therapy relapsed B-lymphoblastic leukemia and patients with a second relapse of B-cell ALL. The first line therapy in these patients was carried out according to the ALL-REZ 2014 protocol. Our results show an improved reduction in minimal residual disease in patients with refractory relapsed B-cell ALL as well as an increased event free survival in children with the high-risk group relapsed B-cell ALL.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, relapse, children, treatment, blinatumomab

Vavilova L.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 62–72.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-62-72

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) – наиболее частое онкологическое заболевание детского возраста. При современных подходах к терапии примерно 90% пациентов с ОЛЛ достигают полной продолжительной ремиссии (ППР). Однако лечение рецидивов и резистентных форм заболевания остается проблемой. Проведение высокодозной химиотерапии с последующей аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в ремиссии без минимальной остаточной болезни (МОБ) считается стандартом терапии для таких больных. Но это лечение сопряжено с высокими рисками тяжелой токсичности и недостаточной эффективности, особенно для пациентов с ранним или рефрактерным рецидивом. Вероятность полного ответа и продолжительность достигнутой ремиссии снижаются с каждой последующей линией химиотерапии. Возможным решением в такой ситуации может стать использование таргетной и иммунотерапии, что позволяет целенаправленно воздействовать на клетки опухолевого клона без повышения уровня общей токсичности терапии. За последнее десятилетие интерес к таргетной и клеточной терапии с исследованиями в этой области многократно возрос. Одним из таких подходов является внедрение блинатумаба в терапию рецидивов ОЛЛ [1–4].

Блинатумомаб представляет собой мышиное антитело, которое обладает специфичностью к молекуле CD19, с одной стороны, и к молекуле CD3 – с другой. CD19-рецептор – трансмембранный гликопротеин суперсемейства иммуноглобулинов, который экспрессируется на поверхности В-лимфоцитов на всех стадиях созревания и присутствует практически на 90–100% опухолевых клеток при В-клеточном ОЛЛ (В-ОЛЛ). Механизм действия блинатумомаба состоит в сближении эффекторных CD3⁺-лимфоцитов и В-линейных лимфоцитов, несущих маркер CD19. Временная цитолитическая связь ведет к активации и усилению пролиферации Т-лимфоцитов и индукции апоптоза CD19⁺-лимфоцитов за счет действия перфоринов и гранзимов цитотоксических Т-лимфоцитов. Впоследствии, как при реализации любого цитотоксического действия, CD3⁺-Т-лимфоцит, активированный блинатумомабом, освобождается от CD19⁺-клетки-мишени и имеет возможность вступить в следующий цитотоксический контакт с несущей CD19⁺-маркер клеткой, вызывая и ее гибель. Имеются данные, что CD19⁺-фрагмент молекулы блинатумомаба обладает большей аффинностью в сравнении с CD3⁺-фрагментом, что может обуславливать высокую эффективность препарата даже при низком количестве CD3⁺-лимфоцитов [4–8]. Механизм действия блинатумомаба представлен на рисунке 1.

Препарат был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов

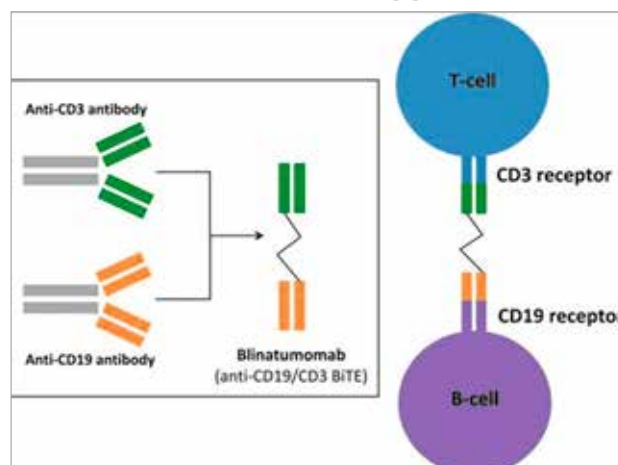
и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) в 2014 г. для лечения рецидивных и рефрактерных (Р-Р) форм ОЛЛ после многоцентрового исследования II фазы (MT103-211, NCT01466179), в которое вошли 189 пациентов с Ph⁺ Р-Р В-ОЛЛ. Учитывая риски синдрома выброса цитокинов и нейротоксичности, использовалось ступенчатое увеличение дозы, начиная с 9 мкг/день в течение 1-й недели, а затем 28 мкг/день в течение последующих 3 нед. Лечение проводилось 6-недельными циклами с 4-недельным курсом и 2-недельным перерывом. На основании этого исследования расчетная долгосрочная выживаемость (не менее 60 мес) оказалась выше и составила 12,4% по сравнению с 5,4% при химиотерапии «спасения» [3, 9–12].

В рандомизированном исследовании фазы III TOWER напрямую оценивалась эффективность блинатумомаба по сравнению с 4 обычно используемыми схемами химиотерапии лечения рефрактерных форм ОЛЛ. В исследование вошли 405 пациентов с Ph⁺ В-ОЛЛ, которые были рандомизированы в соотношении 2:1, а именно 271 пациент получал блинатумомаб и 124 – химиотерапию. По сравнению с пациентами, получавшими химиотерапию, больные в группе с блинатумомабом имели более высокие показатели полного ответа (34% против 16%; $p < 0,001$) и общей выживаемости (ОВ) (7,7 мес против 4 мес; $p = 0,01$). Это исследование подтвердило, что лечение блинатумомабом приводит к значительно более длительной выживаемости у взрослых пациентов с Р-Р В-ОЛЛ по сравнению с традиционной химиотерапией [1, 13].

С июля 2017 г. FDA и Европейское медицинское агентство (European Medicines Agency) одобрили блинатумомаб для лечения взрослых и детей с рецидивами и рефрактерными формами В-ОЛЛ, а в марте 2018 г. одобрение расширено до использования препарата для снижения МОБ (для пациентов с МОБ

Рисунок 1
Механизм действия блинатумомаба [1]

Figure 1
Blinatumomab: mechanism of action [1]



10^{-3} или выше на основании исследования, проведенного Gokbuget и соавт.) [1, 11, 14–16].

В НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева возможность применения блинатумомаба в рамках программы расширенного доступа появилась в 2013 г. Первые пациенты получали блинатумомаб в качестве терапии «спасения» при отсутствии ответа на препараты 1–2-й линий. В дальнейшем возможности применения, а с ними и показания к терапии блинатумомабом расширились, и в 2016 г. он был включен в противорецидивный протокол как основной препарат перед ТГСК у пациентов с Р-Р пре-В-ОЛЛ.

Мы проанализировали результаты лечения блинатумомабом у пациентов с первым и вторым рецидивами В-ОЛЛ, получавшими терапию по принятым в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева противорецидивным протоколам. В протоколе ALL-REZ MB 2014 блинатумомаб применялся в случае рефрактерности заболевания к химиотерапии 2-й линии, а в протоколе ALL-REZ MB 2016 – у пациентов с ранними рецидивами пре-В-ОЛЛ планово после блоков с лимфодеплетизирующими препаратами (флударабин) вместе с инфузиями аутолимфоцитов. Кроме того, пациенты со вторыми рецидивами получали блинатумомаб в качестве консолидирующей терапии в целях снижения МОБ перед ТГСК.

Целью нашего анализа явилась оценка эффективности и токсичности блинатумомаба в группе пациентов с рецидивами В-ОЛЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Критерии включения

В данный анализ включались пациенты в возрасте от 1 до 18 лет с диагнозом ОЛЛ, В-иммуновариант, первым или вторым комбинированным/изолированным рецидивом, установленным с помощью морфологического, цитохимического и иммунофенотипического исследований опухолевых клеток костного мозга. Данные пациенты относились как к группе высокого риска (по срокам ранние и очень ранние рецидивы), так и промежуточного риска, имеющие неудовлетворительный ответ на стандартную химиотерапию ($МОБ \geq 10^{-4}$). Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Пациенты

За период с 13.07.2013 по 16.06.2022 терапию блинатумомабом в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева получили 109 пациентов с рецидивами В-ОЛЛ в возрасте от 1 до 18 лет. Все пациенты удовлетворяли критериям включения, их законные представители (родители) подписывали информированное согласие.

Все 109 пациентов получили 1 или 2 курса блинатумомаба с последующей аллогенной ТГСК в случае достижения МОБ-негативной ремиссии.

Диагностика рецидивов

Диагностика рецидива ОЛЛ во всех случаях проводилась общепринятыми методами – путем морфо-цитохимического исследования мазков костного мозга и иммунофенотипирования бластных клеток путем проточной цитометрии согласно стандартным процедурам. Цитогенетическое исследование костного мозга проводили всем пациентам при диагностике рецидива, а в случаях обнаружения специфических изменений – далее в контрольных точках. МОБ определялась с помощью иммунофенотипирования костного мозга в контрольных временных точках.

Характеристика рецидивов

Изолированный костномозговой рецидив диагностировали при обнаружении в костном мозге не менее 25% лимфобластов при отсутствии экстрамедуллярных очагов лейкоэмической инфильтрации. В случаях с доказанной экстрамедуллярной лейкоэмической инфильтрацией комбинированный костномозговой рецидив диагностировали при наличии более 5% лимфобластов в костном мозге. Тестикулярный рецидив устанавливали в случае клинически пораженного яичка. При одностороннем клиническом вовлечении проводилась биопсия контрлатерального яичка во время орхиэктомии. Нейрорецидив диагностировали в следующих случаях: наличие бластных клеток при цитологическом исследовании ликвора при цитозе $10/мм^3$ и более, наличие изолированного паралича черепно-мозговых нервов, выявление опухолевых образований в головном мозге и в мозговой оболочке при помощи инструментальных методов обследования.

По срокам возникновения первым поздним рецидивом является рецидив, возникший более чем через 6 мес от момента завершения терапии, ранним – через 18–30 мес от даты постановки первичного диагноза, очень ранним – менее чем через 18 мес от даты постановки первичного диагноза.

Стратификацию первых рецидивов на группы риска проводили согласно критериям противорецидивных протоколов. Пациентам с первично-рефрактерными формами, очень ранними, ранними и поздними, но не ответившими первыми рецидивами и пациентам со вторым и последующими рецидивами проведение аллогенной ТГСК при достижении негативной МОБ было обязательным.

Резистентность к химиотерапии (non-responder) определяли в случае отсутствия ремиссии после курса блинатумомаба.

Смерть в индукции (ранняя смерть) регистрировали у пациентов, погибших в первые 60 дней терапии или до момента констатации ремиссии.

Смерть в ремиссии констатировали при гибели детей от различных причин при отсутствии признаков лейкоза.

Клиническая характеристика пациентов

Инициальные характеристики пациентов представлены в *таблице 1*. Мальчиков значительно больше, чем девочек, медиана возраста пациентов составила 7,9 (1,34–17,8) года.

По локализации рецидивов превалировал изолированный костномозговой рецидив ($n = 85$), у 14 человек зарегистрирован комбинированный костномозговой и ЦНС-рецидив, у 6 – комбинированный костномозговой и тестикулярный, у 2 – изолированный ЦНС-рецидив, а также по 1 ребенку имели тестикулярный и комбинированный костномозговой рецидив с экстрамедуллярным поражением.

Цитогенетические находки: у 14 человек была обнаружена $t(12;21)$, у 8 – $t(4;11)$, у 4 – $t(1;19)$, по 1 пациенту имели $t(11;19)$ и $t(9;11)$. У других пациентов значимых стратифицирующих транслокаций не обнаружено. В 18% случаев генетический статус был неизвестен. В исследование не входили пациенты с аномалией $t(9;22)$.

Лечение

В рамках 2 противорецидивных протоколов (ALL-REZ-MB 2014 и ALL-REZ-MB 2016) терапию получали 100 пациентов с первым рецидивом В-ОЛЛ. Химиотерапию 3-й линии и затем блинатумомаб для

достижения МОБ-негативной ремиссии перед ТГСК получали 9 пациентов со вторым рецидивом ОЛЛ. Пациентов с рецидивом после алло-ТГСК в данном анализе не было.

Дизайн протокола ALL-REZ-MB 2014 представлен на *рисунке 2*.

Подробное описание протокола и состав блоков ПХТ приведены нами в предыдущих публикациях [6, 7]. Пациенты получали 1 курс (2 ребенка получили 2 курса) блинатумомаба в качестве salvage-терапии в том случае, если не была достигнута морфологическая ремиссия или отмечался высокий уровень МОБ перед ТГСК.

В следующей версии протокола – ALL-REZ 2016 – основные изменения касались пациентов групп высокого риска, но также предусматривали использование таргетной терапии и для пациентов группы S2 с плохим ответом на стандартную химиотерапию. Схема представлена на *рисунке 3*. Подробное описание протокола и состав блоков полихимиотерапии также приведены нами в предыдущих публикациях [6, 7].

Принципиально новым в этом протоколе явилось добавление курса блинатумомаба с аутоинфузиями $CD3^+$ -лимфоцитов после блоков полихимиотерапии для пациентов с рецидивами В-линейного лейкоза. Всем пациентам, получающим терапию в рамках группы высокого риска по протоколу ALL-REZ 2016, во время циторедукции до проведения высокоинтенсивных блоков химиотерапии с клофарабином/флударабином проводили аферез $CD3^+$ -аутолимфоцитов. Сбор мононуклеаров инициировали, если число $CD3^+$ -клеток в периферической крови было не

Рисунок 2
Дизайн протокола ALL-REZ 2014

Figure 2
The design of the ALL-REZ 2014 protocol

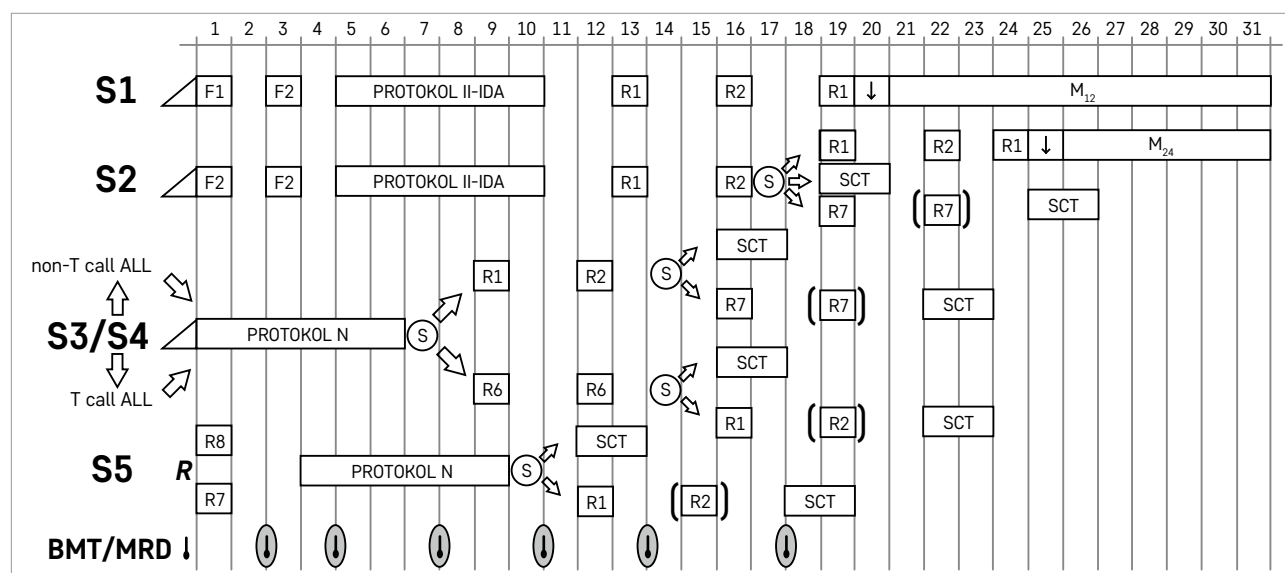
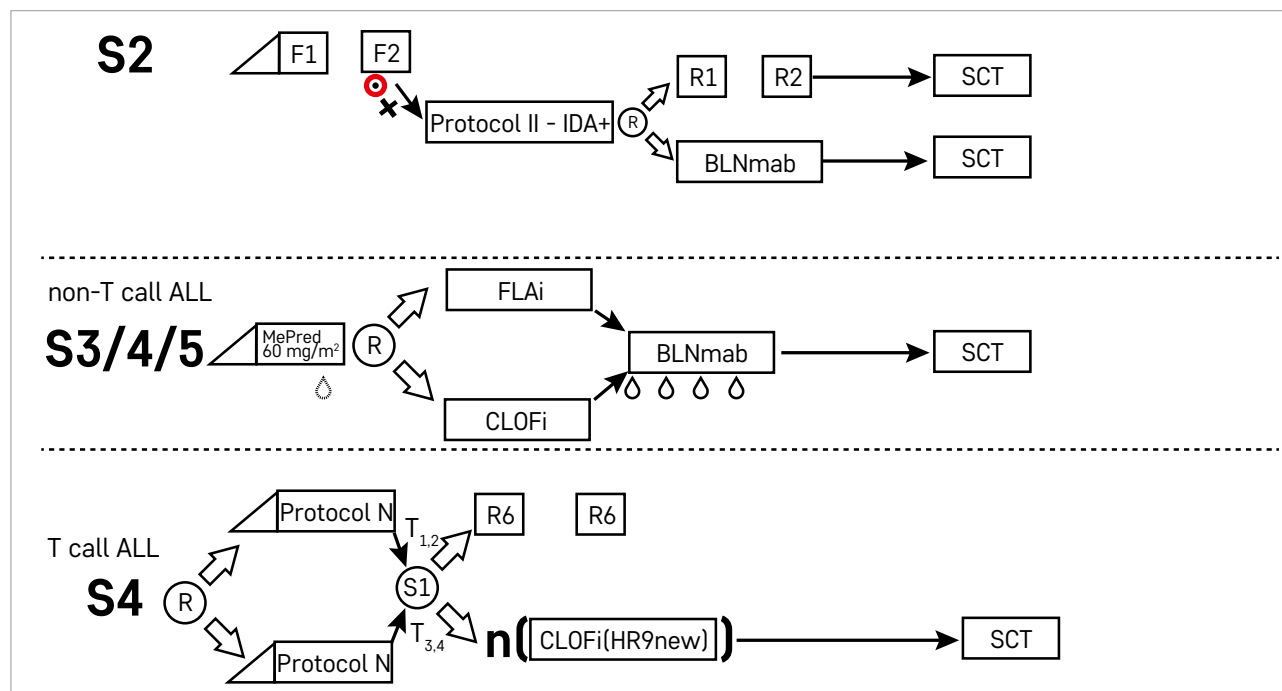


Рисунок 3
Дизайн протокола ALL-REZ 2016
Figure 3
The design of the ALL-REZ 2016 protocol



менее $0,3 \times 10^6/\text{мл}$ в случае отсутствия циркулирующих бластов, не менее $0,5 \times 10^6/\text{мл}$ при среднем количестве циркулирующих бластов и не менее $1 \times 10^6/\text{мл}$, если в периферической крови выявляли $\geq 60\%$ бластных клеток. Пациентам, у которых не удавалось редуцировать число циркулирующих бластов ниже 90% и/или количество $\text{CD}3^+$ -клеток у них было ниже $0,3 \times 10^6/\text{мл}$, аферез не проводили. Лейкаферезы выполняли с применением программы сбора мононуклеаров на сепараторах Spectra Optia, программное обеспечение версий 9 и 11 (Terumo BCT, Lakewood, CO, США) или Cobe Spectra, программное обеспечение версии 6.1 (Terumo BCT, Lakewood, CO, США). Продукт афереза делили на 4 равные части и криоконсервировали, в дальнейшем его разморозка проводилась перед еженедельным введением. Таким образом, после циторедуктивной фазы пациенты на протоколе ALL-REZ 2016 были рандомизированы на блоки с флударабином или клофарабином, а затем на 15–20-е сутки от начала полихимиотерапии получали курс блинатумомаба с дальнейшей оценкой эффективности на 29-е сутки [6, 7, 17, 18].

Все пациенты получали блинатумомаб в виде 28-дневного цикла непрерывной инфузии в стандартной дозе $5 \text{ мкг}/\text{м}^2$ в дни 1–7, далее $15 \text{ мкг}/\text{м}^2$ в дни 8–28. Пациенты с массой тела более 45 кг получали блинатумомаб по схеме $9 \text{ мкг}/\text{сут}$ в дни 1–7, далее $28 \text{ мкг}/\text{сут}$ в дни 8–28.

Введение аутолимфоцитов проводили на курсе блинатумомаба в дни 1, 8, 15, 22 [1, 7].

У тех пациентов, которые получали второй курс блинатумомаба, он начинался через 2 нед от первого и сразу с полной дозы в течение 28 дней. Второй курс блинатумомаба проводился пациентам, имеющим уровень МОБ после первого курса $\geq 10^{-4}$.

Также всем пациентам в первый и последний дни курса блинатумомаба проводилась профилактика нейтролейкоза с интратекальным введением триплета (метотрексат, цитозар, дексаметазон) в возрастной дозировке.

Всем пациентам проводили проспективное мониторингирование МОБ для оценки качества ремиссии. В случае достижения МОБ $< 10^{-4}$, а также при отсутствии противопоказаний по соматическому статусу следующим этапом всем пациентам проводили аллогенную ТГСК [6, 19–21].

Организация исследования и статистический анализ

Результаты терапии рецидива ОЛЛ оценивали с учетом числа пациентов, у которых была достигнута полная ремиссия (ПР), количества ранних смертей, рецидивов, летальных исходов в ПР и числа пациентов, находящихся в ППР, а также показателей бессобытийной выживаемости (БСВ) и ОВ, рассчитанных по методу Каплана–Майера. Для сравнения кривых выживаемости использовали непараметрический log-rank-критерий. Выживаемость рассчитывали от даты диагностики рецидива ОЛЛ до даты наступления неблагоприятного события или даты

последнего контакта с пациентом. При оценке БСВ событиями считались смерть в индукции, смерть в ремиссии, второй и последующие рецидивы, вторая опухоль, рефрактерность к терапии (non-responder). У пациентов, не достигших ремиссии, датой наступления события считалась нулевая точка (дата диагноза). При сравнении групп пациентов по категориальным признакам использовали критерий χ^2 или критерий Фишера. Статистические вычисления выполнены с помощью программ Prizma Graphpad, версия 7.0 (GraphPad Software Inc, Сан-Диего, США), Statistica, версия 6.0 (Statsoft Inc, Талса, США) и программы R, версия 2.4.0. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Распределение пациентов по группам риска и со вторым рецидивом представлено в таблице 2. Терапию блинатумомом после стандартной химиотерапии получали 24 пациента, так как имели высокий уровень МОБ, большинство больных получали терапию в рамках группы высокого риска (S3/S4/S5), куда были стратифицированы изначально (ранний и очень ранний рецидивы), процент опухолевых клеток в костном мозге перед курсом блинатумомом у данных пациентов был различным.

Результаты терапии

Результаты лечения представлены в таблице 3.

Медиана наблюдения за больными без событий, получавших терапию блинатумомом, составила 3,2 (0,21–8,4) года. МОБ-негативная ремиссия была достигнута у 84% пациентов. Индукционной летальности не было. У 47,7% пациентов удалось достичь ППР. Повторный рецидив был зафиксирован у 31% пациентов уже после ТГСК. Смерть в ремиссии была обусловлена развитием посттрансплантационной токсичности или инфекционными осложнениями после ТГСК и составила 5,5%.

Как мы видим из таблицы 3, результаты терапии различались по группам риска и протоколам терапии. Так, у группы риска S2 выход в ремиссию отмечен у 91% пациентов, рецидивы после ТГСК случились у 8,3%, а ППР достигнута у 75%. Самые низкие показатели выхода в ремиссию и достижения ППР отмечены у пациентов группы высокого риска протокола ALL-REZ 2014: 73% и 15% соответственно, также в этой группе самый высокий уровень повторных рецидивов – 47%. У пациентов, получивших терапию по протоколу ALL-REZ 2016, уровень рецидивов после ТГСК составил 35%, в ПР находились 43%. У пациентов со вторым рецидивом ОЛЛ отмечен самый высокий уровень достижения ремиссии – 100%, рецидивы случились у 33%, ПР сохранялась у 66%.

Таблица 1
Инициальная характеристика пациентов

Table 1
Initial characteristics of patients

Параметр Parameter	Значение Value
Всего, n (%) Total number of patients, n (%)	109 (100)
Протокол ALL-REZ 2014, n (%) The ALL-REZ 2014 protocol, n (%)	43 (39,4)
Протокол ALL-REZ 2016, n (%) The ALL-REZ 2016 protocol, n (%)	57 (52,3)
Вторые рецидивы, n (%) Second relapses, n (%)	9 (8,25)
Пол, n (%): Sex, n (%): мальчики boys девочки girls	70 (64,2) 39 (35,8)
Возраст, медиана, годы Median age, years	7,9 (1,34–17,8)
Классификация рецидивов по времени возникновения, n (%): Classification of relapses according to the time of occurrence, n (%): очень ранний very early relapse ранний early relapse поздний late relapse	40 (36,7) 43 (39,4) 26 (23,9)
Классификация рецидивов по локализации, n (%): Classification of relapses according to the site, n (%): изолированный костномозговой isolated bone marrow relapse изолированный ЦНС-рецидив isolated CNS relapse тестикулярный testicular relapse комбинированный костномозговой и ЦНС-рецидив combined bone marrow and CNS relapse комбинированный костномозговой и тестикулярный combined bone marrow and testicular relapse комбинированный костномозговой, экстрамедуллярный (внутрибрюшные лимфоузлы), ЦНС-рецидив combined bone marrow, extramedullary (intra-abdominal lymph nodes), CNS relapse	85 (78,0) 2 (1,8) 1 (0,9) 14 (12,9) 6 (5,5) 1 (0,9)
Цитогенетические находки, n (%): Cytogenetic findings, n (%): t(12;21) t(4;11) t(1;19) t(11;19) t(9;11) значимых транслокаций не обнаружено no significant translocation was found генетический статус неизвестен genetic status is unknown	14 (12,9) 8 (7,3) 4 (3,7) 1 (0,9) 1 (0,9) 61 (56) 20 (18,3)

Примечание. ЦНС – центральная нервная система.
Note. CNS – central nervous system.

Таблица 2
Стратификация пациентов по группам риска и номеру рецидива

Table 2
Stratification of patients by risk groups and relapse number

Параметр Parameter	ALL-REZ 2014, n (%)	ALL-REZ 2016, n (%)	p
Всего Total number of patients	52 (100)	57 (100)	
S2	24 (46,2)	0	< 0,0001
S3	5 (9,6)	17 (29,8)	0,0086
S4	14 (26,9)	24 (42,1)	0,0966
S5	0	16 (28,1)	< 0,0001
Второй рецидив Second relapse	9 (17,3)	0	0,0010

Таблица 3
Результаты терапии пациентов всех групп риска

Table 3
Treatment results of patients of all risk groups

Параметр Parameter	n (%)	ALL-REZ 2014		Вторые рецидивы n (%) Second relapses n (%)	ALL-REZ 2016, n (%)
		S3/4, n (%)	S2, n (%)		
Всего Total number of patients	109 (100)	19 (100)	24 (100)	9 (100)	57 (100)
Смерть в индукции Death in induction	0	0	0	0	0
Резистентность (рефрактерность) к терапии Non-responder	17 (15,6)	5 (26,4)	2 (8,3)	0	10 (17,5)
ПР Complete remission (CR)	92 (84,4)	14 (73,6)	22 (91,6)	9 (100)	47 (82,5)
Смерть в ремиссии Death in remission	6 (5,5)	2 (10,5)	2 (8,3)	0	2 (3,5)
Рецидив Relapse	34 (31,2)	9 (47,3)	2 (8,3)	3 (33,3)	20 (35,1)
ППР Long-term CR	52 (47,7)	3 (15,7)	18 (75,1)	6 (66,7)	25 (43,9)

Рисунок 4
Результаты терапии всех пациентов

Figure 4
Treatment results of all patients

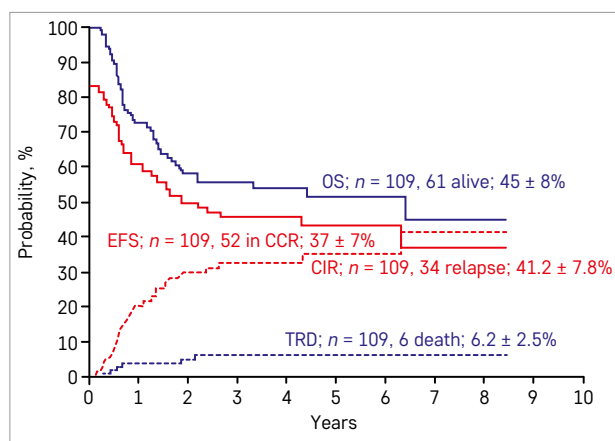
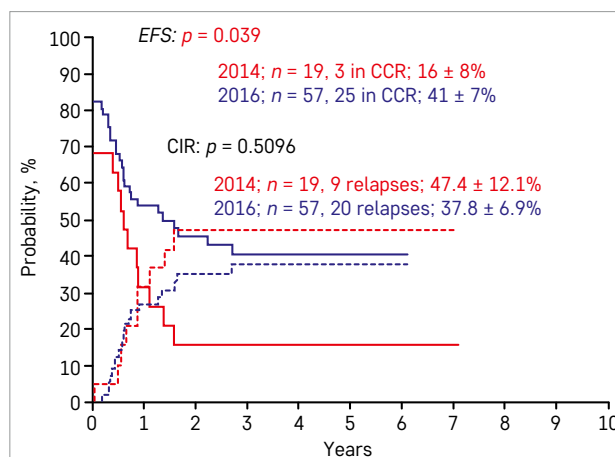


Рисунок 5
Сравнение результатов терапии на протоколах ALL-REZ 2014 и ALL-REZ 2016 для пациентов групп высокого риска

Figure 5
The ALL-REZ 2014 vs ALL-REZ 2016 protocol for high-risk group patients: comparison of treatment results



Графические результаты терапии пациентов представлены на *рисунке 4*. Для всех 109 пациентов, вошедших в исследование, 3-летняя ОВ составила $45 \pm 8\%$, БСВ – $37 \pm 7\%$, кумулятивная частота рецидивов и кумулятивная частота смертности в процессе терапии – $41 \pm 7,8\%$ и $6,2 \pm 2,5\%$ соответственно. Медиана наблюдения БСВ составила 1,6 года (максимально 6,4 года).

Всем пациентам, находящимся в ППР, проведена аллогенная ТГСК.

Сравнение результатов терапии пациентов высоких групп риска (S3/S4/S5) по протоколам ALL-REZ 2014 и ALL-REZ 2016 представлено на *рисунке 5*. Получены достоверные различия в БСВ: на протоколе ALL-REZ 2016 она выше и составляет $41 \pm 7\%$, а на протоколе ALL-REZ 2014 – $16 \pm 8\%$.

Оценка результатов лечения пациентов в разных группах риска представлена на *рисунке 6*. Очевидно, что наилучшие результаты продемонстрированы у пациентов группы S2 – $66,8 \pm 11,9\%$, наименьшие – в группах высокого риска (S3/S4/S5) – $34,2 \pm 5,7\%$. Пациенты со вторым рецидивом ОЛЛ имели БСВ $54,7 \pm 20,1\%$. Различия достоверны – $p = 0,0004$.

На *рисунке 7* представлена кумулятивная частота рецидивов в зависимости от группы риска. Следует отметить, что наибольшая частота рецидивов выявлена у пациентов со вторым рецидивом ОЛЛ – $45,3 \pm 22,6\%$, у группы риска S2 она составляет лишь $13,5 \pm 9,6\%$, $p = 0,026$.

Для оценки эффективности блинатумаба в зависимости от опухолевой нагрузки в костном мозге перед началом курса мы разделили пациентов на 2 группы (бласты в костном мозге $< 5\%$ и $> 5\%$). Результаты представлены в *таблице 4*.

Большинство пациентов (65%), получавших курс блинатумаба в целях достижения МОБ-негативной ремиссии в рамках протокола ALL-REZ 2014, а также

во втором рецидиве ОЛЛ, имели менее 5% бластных клеток в костном мозге перед началом курса блинатумомаба.

Очевидно, что пациенты в первой группе имели хороший уровень достижения ремиссии после блинатумомаба, получили ТГСК и 58,8% из них находятся в ППР после трансплантации. Рефрактерных к проводимой терапии пациентов в этой группе не было, а рецидив констатирован у 4 пациентов после ТГСК. В группе пациентов с бластозом $\geq 5\%$ 7 (38,9%) человек не ответили на курс блинатумомаба и умерли от прогрессии. В ППР находились всего 7 (38,9%) пациентов. Рецидивов в данной группе не наблюдалось.

Два пациента в нашем исследовании получали второй курс блинатумомаба на протоколе ALL-REZ 2014. У одного пациента после 2-го курса отмечалась прогрессия основного заболевания, второй

Рисунок 6
Сравнение БСВ в разных группах риска

Figure 6
Comparison of EFS between different risk groups

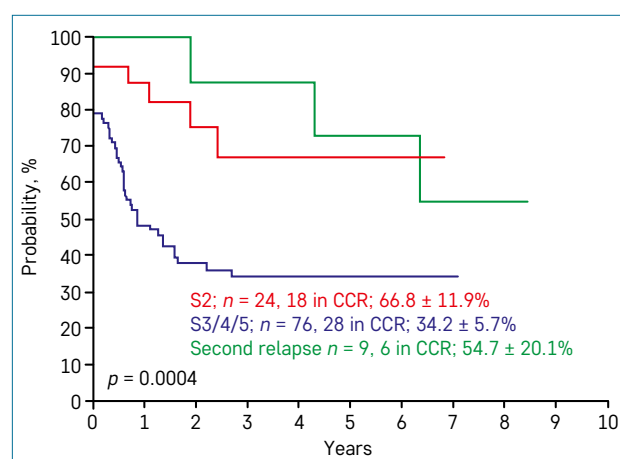
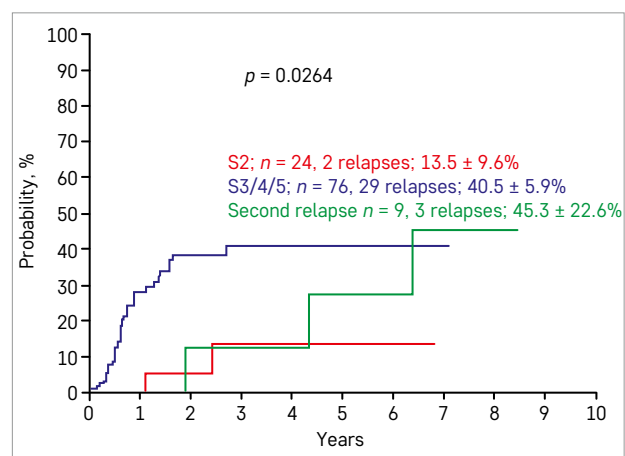


Рисунок 7
Кумулятивная частота развития рецидивов у пациентов в зависимости от группы риска и номера рецидива

Figure 7
The cumulative incidence of relapse in patients depending on the risk group and relapse number



получил аллогенную ТГСК, но умер от токсичности в ремиссии.

В таблице 5 проанализирована связь между редукцией бластоза перед курсом блинатумомаба и оценкой ответа после него у пациентов группы высокого риска, получавших терапию по протоколу ALL-REZ 2016. Всем 57 детям на 15-е сутки от начала блока полихимиотерапии с клофарабинном/флударабином проводилось цитологическое исследование костного мозга в целях оценки редукции уровня бластных клеток, а полноценная оценка статуса ремиссии и МОБ в объеме цитологического, имму-

Таблица 4

Результат терапии пациентов, получавших терапию по протоколу ALL-REZ 2014 (также включены пациенты со вторым рецидивом) в зависимости от содержания бластов в костном мозге перед курсом блинатумомаба

Table 4

Treatment results of patients who received therapy according to the ALL-REZ 2014 protocol (patients with the second relapse are also included) depending on the percentage of blasts in the bone marrow prior to the blinatumomab course

Параметр Parameter	Содержание бластов в костном мозге, n (%) The percentage of blasts in the bone marrow, n (%)		p
	< 5%	$\geq 5\%$	
Всего Total number of patients	34 (100)	18 (100)	
Смерть в индукции Death in induction	0	0	0
Резистентность (рефрактерность) к терапии Non-responder	0	7 (38,9)	0,000001
ПР CR	34 (100)	11 (61,1)	0,000001
Рецидив Relapse	4 (11,8)	0	0,1299
Смерть в ремиссии Death in remission	10 (29,4)	4 (22,2)	0,5782
ППР Long-term CR	20 (58,8)	7 (38,9)	0,1711

Таблица 5

Уровень бластоза перед курсом блинатумомаба у пациентов на протоколе ALL REZ- 2016

Table 5

Blast count prior to the course of blinatumomab in patients treated according to the ALL-REZ 2016 protocol

Параметр Parameter	Содержание бластов в костном мозге, n (%) The percentage of blasts in the bone marrow, n (%)		p
	< 15%	$\geq 15\%$	
Всего Total number of patients	36 (100)	21 (100)	
Смерть в индукции Death in induction	0	0	0
Резистентность (рефрактерность) к терапии Non-responder	3 (8,3)	7 (33,3)	0,0167
ПР CR	33 (91,7)	14 (66,7)	0,0167
Рецидив Relapse	14 (38,9)	7 (33,3)	0,1299
Смерть в ремиссии Death in remission	0	2 (9,5)	0,0594
ППР Long-term CR	19 (52,8)	5 (23,8)	0,0326

нофенотипического и при наличии транслокаций цитогенетического исследований проводилась сразу после завершения курса блинатумомаба (на 29-й день).

У 36 пациентов была достигнута редукция уровня бластных клеток менее 15% перед курсом блинатумомаба. Из них у 33 пациентов достигнута ПР, рефрактерных пациентов было 3 (8,3%), а рецидив после ТГСК зафиксирован у 14 (39%). В ППР после ТГСК находятся 19 пациентов. В группе пациентов, не достигших редукции бластоза (бластные клетки $\geq 15\%$ в костном мозге), 14 (66%) достигли ПР, рецидив после ТГСК зафиксирован у 7 (33%), а в ППР после ТГСК находились 5 (23,8%). Таким образом, прослеживается достоверная взаимосвязь между редукцией бластоза и выходом в ремиссию.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашем исследовании был проведен анализ гетерогенной группы пациентов с неблагоприятным прогнозом. У большинства из них были диагностированы первый ранний и сверхранний рецидивы или второй рецидив пре-B-ОЛЛ. Двадцать два процента составляли пациенты с поздним рецидивом, не ответившие на терапию индукции по противорецидивному протоколу, которые фактически также имели неблагоприятный прогноз без проведения ТГСК. БСВ для всех пациентов, вошедших в анализ, составила 40% и, учитывая наличие всех вышеперечисленных факторов, данный результат можно считать удовлетворительным. Выход в ремиссию после терапии блинатумомабом у всех пациентов составил 84%, рецидивы случились в 30% случаев после проведения ТГСК, т. е. большинство пациентов достигли МОБ-негативной ремиссии и смогли получить ТГСК. Пятьдесят процентов пациентов (группа ALL-REZ 2014 и вторые рецидивы) получали блинатумомаб после длительной полихимиотерапии, т. е. были значительно предлечены. В большинстве случаев противорецидивная терапия у данных пациентов до ТГСК занимала более 6–8 мес, отмечались множественные эпизоды инфекционных осложнений. Выживаемость у таких пациентов составила всего 27%.

Пациенты, получившие лечение по протоколу ALL-REZ 2016, получали таргетную терапию после 1 блока полихимиотерапии с антинуклеозидами (клофарабин/флударабин), т. е. длительность лечения от начала и до ТГСК занимала в среднем 3 мес. Их БСВ составила 41%. В обеих группах отмечен значительный риск повторных рецидивов – 41% и 38% соответственно. Все рецидивы произошли после ТГСК, таким образом, основная проблема

терапии пациентов высокой группы риска заключается в повторных рецидивах. Это может косвенно указывать на недостаточный клиренс опухолевых клеток перед ТГСК.

При сравнении БСВ по группам риска наиболее благоприятные результаты лечения продемонстрированы в группе S2 – 66%, в то время как в группе высокого риска данный показатель составил всего 34%. Пациенты со вторыми рецидивами имели БСВ 55%, но данная группа представлена наименьшим числом пациентов.

По данным литературы, применение блинатумомаба дает преимущество в БСВ у пациентов с низкой опухолевой нагрузкой, оптимальный ответ достигается при терапии пациентов с МОБ [1, 10, 14]. В нашем исследовании пациенты с бластами в костном мозге менее 5% также показали уровень БСВ 55% против 25% у пациентов с высокой опухолевой нагрузкой. Учитывая механизм действия биспецифического антитела блинатумомаб, его применение в условиях отсутствия CD3⁺-лимфоцитов после лимфодеплетирующей терапии менее эффективно. Но рефрактерность к химиотерапии рецидивов высокой группы риска диктует необходимость применения интенсивных блоков, приводящих к длительной аплазии. Инфузия предварительно собранных аутолимфоцитов позволяет начинать инфузию блинатумомаба практически сразу по окончании курса лимфодеплетирующей терапии. Исходя из полученных результатов, 85% пациентов (47 из 57) достигли ремиссии к моменту окончания курса, что говорит об эффективности применения такого подхода.

Как и в предыдущих исследованиях, в нашей работе также выявлена достоверная зависимость между опухолевой массой и достижением ремиссии после курса блинатумомаба [1, 14]. Из 36 пациентов, имеющих редукцию уровня бластов на + 15-е сутки после блока полихимиотерапии, у 33 (91,7%) была достигнута МОБ-негативная ремиссия, 3 (8,3%) пациента оказались рефрактерными, а ППР достигнута у 19 (52,8), рецидив возник у 14 (38,9) пациентов после ТГСК. В группе детей, у которых количество бластных клеток в костном мозге составило $\geq 15\%$ перед курсом блинатумомаба ($n = 21$), число рефрактерных к терапии пациентов оказалось значительно больше ($n = 7$; 33,3%), а ППР достигнута лишь у 5 (23,8%), повторный рецидив случился у 7 (33,3%).

В настоящее время аллогенная ТГСК рекомендуется всем пациентам с рецидивами ОЛЛ, у которых обнаруживается МОБ после стандартной индукционной терапии. Торр и соавт. сообщили, что 45% пациентов, которым не была проведена трансплантация, сохраняли ремиссию при среднем периоде

наблюдения 50,8 мес по сравнению с 56% пациентов, которым была проведена ТГСК. Это было дополнительно подтверждено в исследовании BLAST, в котором 25% пациентов, которым не проведена трансплантация, оставались в ремиссии при среднем сроке наблюдения 24 мес по сравнению с 49% пациентов, перенесших ТГСК. Взятые вместе, эти данные предполагают, что не всем пациентам, получившим блинатумомаб и достигшим МОБ-негативной ремиссии, обязательно требуется ТГСК. Однако данное утверждение требует дальнейшего изучения. Мы в нашем исследовании рассматривали и применяли блинатумомаб как «мостик» перед обязательной аллогенной ТГСК в случае достижения оптимального уровня МОБ [1, 3, 5].

Оценка профиля токсичности не являлась целью данной работы, однако мы не столкнулись с серьезными побочными эффектами применения блинатумомаба. Смерти пациентов зафиксировано не было, нейротоксичность проявлялась судорогами у 3 пациентов, одному из которых мы вынуждены были прервать курс терапии. Самым частым осложнением являлась фебрильная лихорадка на фоне синдрома выброса цитокинов.

Дискутабельным является вопрос о количестве курсов блинатумомаба – 1, 2 или больше? Учитывая, что МОБ-негативный уровень ремиссии достигался большинством пациентов после первого курса и в исследованиях у части пациентов с МОБ-негативностью после первого курса отмечалось нарастание МОБ после второго курса блинатумомаба, вероятно, оптимальным является проведение 1 курса с последующей аллогенной ТГСК. Тем же пациентам, у которых отмечался позитивный уровень МОБ после первого курса, можно задуматься о проведении второго курса, так как у 30% данных пациентов возможно достижение МОБ-негативной ремиссии после второго курса блинатумомаба [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашем анализе большинство пациентов с рецидивом ОЛЛ были значительно предлечены, наилучшие результаты достигнуты у пациентов с низкой опухолевой нагрузкой перед курсом блинатумомаба. Большой проблемой остается высокий уровень повторных рецидивов после проведения аллогенной ТГСК пациентам в МОБ-негативной ремиссии. Кроме того, по данным большинства исследований, пациенты с неблагоприятными цитогенетическими транслокациями (перестройки *KMT2A*, *E2A-PBX1*) имеют очень плохой ответ на противорецидивную терапию, включая таргетную. В настоящее время исследование применения блинатумомаба у детей продолжают, появляются публикации об использовании данного препарата у детей с В-ОЛЛ в 1-й линии терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Vavilova L.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7959-3512>

Dyakonova Yu.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8725-7532>

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

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

Abugova Yu.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5201-6475>

Anderzhanova L.Kh. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3247-8688>

Evstratov D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2801-7421>

Kurnikova E.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4767-5382>

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

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

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

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

Popa A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5318-8033>

Karachunskiy A.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9300-5198>

Литература

1. Sigmund A.M., Sahasrabudhe K.D., Bhatnagar B. Evaluating Blinatumomab for the Treatment of Relapsed/Refractory ALL: Design, Development, and Place in Therapy. *Blood Lymphat Cancer* 2020; 10: 7–20.
2. Hoelzer D., Bassan R., Dombret H., Fielding A., Ribera J.M., Buske C., et al. Acute lymphoblastic leukaemia in adult patients: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2016; 27 (suppl 5): v69–v82.
3. Topp M.S., Gökbuget N., Stein A.S., Zugmaier G., O'Brien S., Bargou R.C., et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2015; 16 (1): 57–66.
4. Dhedin N., Huynh A., Maury S., Tabrizi R., Beldjord K., Asnafi V., et al. Role of allogeneic stem cell transplantation in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2015; 16 (1): 57–66.

- tic leukemia. *Blood* 2015; 125 (16): 2486–96; quiz 2586.
5. Topp M.S., Stelljes M., Zugmaier G., Barnette P., Heffner L.T. Jr, Trippett T., et al. Blinatumomab retreatment after relapse in patients with relapsed/ refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2018; 32 (2): 562–5.
 6. Дьяконова Ю.Ю., Быданов О.И., Мякова Н.В., Абугова Ю.Г., Алейникова О.В., Аракаев О.Р. Результаты противорецидивной терапии острого лимфобластного лейкоза у детей по пилотному протоколу ALL-REZ-MB 2014. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2017; 16 (3): 7–14.
 7. Дьяконова Ю.Ю., Быданов О.И., Мякова Н.В., Масчан М.А., Абугова Ю.Г., Евстратов Д.А. и др. Первые результаты исследования терапии рецидивов высокой группы риска у детей по пилотному протоколу ALL-REZ-2016. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2019; 18 (1): 12–21.
 8. Fleming S., Venn N., Reynolds J., et al. Preliminary minimal residual disease analysis of the australasian leukaemia & lymphoma group (ALLG) ALL8 study of front-line blinatumomab with chemotherapy in adults with Ph negative B-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Blood* 2019; 134 (Suppl 1): 1300.
 9. Badar T., Szabo A., Advani A.S., Wadleigh M., Arslan S., Ali Khan M., et al. Real world outcomes of adult B-cell acute lymphocytic leukemia patients treated with blinatumomab. *Blood* 2019; 134 (Suppl 1): 3809.
 10. Goebeler M.-E., Knop S., Viardot A., Kufer P., Topp M.S., Einsele H., et al. Bispecific T-cell engager (BiTE) antibody construct blinatumomab for the treatment of patients with relapsed/ refractory non-hodgkin lymphoma: final results from a phase I study. *J Clin Oncol* 2016; 34 (10): 1104–11.
 - DOI: 10.1200/JCO.2014.59.1586
 11. Gokbuget N., Dombret H., Bonifacio M., Reichle A., Graux C., Faul C., et al. Blinatumomab for minimal residual disease in adults with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2018; 131 (14): 1522–31.
 12. Huehls A.M., Coupet T.A., Sentman C.L. Bispecific T-cell engagers for cancer immunotherapy. *Immunol Cell Biol* 2015; 93 (3): 290–6.
 13. Kantarjian H., Stein A., Gökbuget N., Fielding A.K., Schuh A.C., Ribera J.-M., et al. Blinatumomab versus chemotherapy for advanced acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2017; 376 (9): 836–47.
 14. Gokbuget N., Zugmaier G., Klinger M., Kufer P., Stelljes M., Viardot A., et al. Long-term relapse-free survival in a phase 2 study of blinatumomab for the treatment of patients with minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2017; 102 (4): e132–5.
 15. Hoelzer D., Bassan R., Dombret H., Fielding A., Ribera J.M., Buske C.; ESMO Guidelines Committee. Acute lymphoblastic leukaemia in adult patients: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2016; 27 (suppl 5): v69–v82.
 16. Klinger M., Brandl C., Zugmaier G., Hijazi Y., Bargou R.C., Topp M.S., et al. Immunopharmacologic response of patients with B-lineage acute lymphoblastic leukemia to continuous infusion of T cell-engaging CD19/CD3-bispecific BiTE antibody blinatumomab. *Blood* 2012; 119 (26): 6226–33.
 17. Kontermann R.E. Dual targeting strategies with bispecific antibodies. *MAbs* 2012; 4 (2): 182–97.
 18. Gore L., Locatelli F., Zugmaier G., Handgretinger R., O'Brien M.M., Bader P., et al. Survival after blinatumomab treatment in pediatric patients with relapsed/refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood Cancer J* 2018; 8 (9): 80.
 19. Nagorsen D., Kufer P., Baeuerle P.A., Bargou R. Blinatumomab: a historical perspective. *Pharmacol Ther* 2012; 136 (3): 334–42.
 20. Richard-Carpentier G., Kantarjian H.M., Jorgensen J.L., et al. Phase II study of blinatumomab in patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) with positive measurable residual disease (MRD). *Blood* 2019; 134 (Suppl 1): 1299.
 21. Zhu M., Wu B., Brandl C., et al. Blinatumomab, a bispecific T-cell engager (BiTE®) for CD-19 targeted cancer immunotherapy: clinical pharmacology and its implications. *Clin Pharmacokinet* 2016; 55 (10): 1271–88.

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-73-77

Оценка клеточности костного мозга методом магнитно-резонансной томографии при апластической анемии у детей

Н.А. Кривенцова, Г.В. Терещенко

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

Апластическая анемия – жизнеугрожающее состояние, характеризующееся угнетением всех ростков кроветворения в костном мозге. Опустьшие межатрабекулярные пространства замещаются жировой тканью. Современные методики оценки фракции жира при помощи магнитно-резонансной томографии (МРТ) позволяют улавливать эти изменения. Фракция жира оценивается как отношение интенсивности МР-сигнала жира к сумме МР-сигналов жира и воды. Цель исследования – оценить диагностическую значимость измерения фракции жира в костном мозге у пациентов с апластической анемией младше 18 лет. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В исследование включены 66 пациентов в возрасте младше 18 лет. Контрольную группу составили 33 здоровых ребенка, средний возраст – $13,03 \pm 2,83$ года. В основную группу вошли 33 пациента с подтвержденным диагнозом «апластическая анемия», средний возраст – $12,31 \pm 4,39$ года. Исследование выполнялось в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева на томографе Philips Achieva 3.0T с использованием последовательности mDixon-quant на область подвздошных костей и поясничных позвонков. По данным МРТ фракция жира в костном мозге у детей с апластической анемией была значительно выше, чем у здоровых добровольцев. Средние показатели в подвздошных костях у пациентов с апластической анемией составили $82,62 \pm 10,92\%$ и в позвонках L4, L5 – $73,52 \pm 17,52\%$. В контрольной группе данные показатели в тех же точках составили $51,04 \pm 11,41\%$ и $31,43 \pm 10,61\%$ соответственно. При сравнении в одинаковых точках была получена статистически значимая разница ($p < 0,01$). Исследование фракции жира в костном мозге методом МРТ позволяет выявить снижение клеточности костного мозга у пациентов младше 18 лет с апластической анемией по сравнению со здоровыми детьми.

Ключевые слова: фракция жира, магнитно-резонансная томография, педиатрия, гематология

Кривенцова Н.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 73–77. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-73-77

Bone marrow cellularity assessment using magnetic resonance imaging in children with aplastic anemia

N.A. Kriventsova, G.V. Tereshchenko

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

Aplastic anemia is a life-threatening condition characterized by the suppression of all hematopoietic lineages in the bone marrow. Empty intertrabecular spaces are replaced by adipose tissue. With modern MR techniques for assessing fat fraction, it has become possible to capture these changes. The fat fraction is estimated as the ratio of the signal intensity from fat to the sum of the fat and water signals. Aim of the study: to assess the diagnostic value of bone marrow fat fraction quantification in patients aged < 18 years with aplastic anemia. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. The study included 66 participants aged under 18 years. A control group consisted of 33 healthy subjects with a mean age of 13.03 ± 2.83 years. A group of interest included 33 children with a confirmed diagnosis of aplastic anemia, with a mean age of 12.31 ± 4.39 years. The study was carried out at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; all scanning was performed on a Philips Achieva 3.0T MRI scanner using the mDixon-quant sequence in the iliac bones and lumbar vertebrae. Our results showed that bone marrow fat fraction was significantly higher in the aplastic anemia group than in the controls. In the patients with aplastic anemia, the mean fat fraction values in the iliac bones and in the L4, L5 vertebrae were $82.62 \pm 10.92\%$ and $73.52 \pm 17.52\%$, respectively. In the control group, the mean fat fraction values for these sites were $51.04 \pm 11.41\%$ and $31.43 \pm 10.61\%$, respectively. We found a significant difference in fat fraction values for the same sites between the groups ($p < 0.01$). Bone marrow fat fraction quantification by MRI allows for the detection of decreased cellularity of the marrow in patients under 18 years of age with aplastic anemia compared to healthy children.

Key words: fat fraction, magnetic resonance imaging, pediatrics, hematology

Kriventsova N.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 73–77. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-73-77

Апластическая анемия (АА) – это гематологическое заболевание, основной гистологической характеристикой которого является выраженное снижение клеточности кроветворного

костного мозга вплоть до аплазии с увеличением количества адипоцитов [1]. Первый пик заболеваемости приходится на подростков и молодых взрослых, второй пик – на пожилых пациентов. Среди жителей

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 22.12.2022
Принята к печати 30.01.2023

Контактная информация:

Кривенцова Наталья Алексеевна,
врач-рентгенолог, лаборант-исследователь
отдела лучевой диагностики
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: nataliya.krivencova@fccho-moscow.ru

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 22.12.2022

Accepted 30.01.2023

Correspondence:

Natalia A. Kriventsova,
a radiologist and a research technician
at the Department of Diagnostic Radiology
at the Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology, Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: nataliya.krivencova@fccho-moscow.ru

Европы и Северной Америки частота встречаемости составляет около 2 заболевших на 1 млн населения, тогда как в азиатских странах этот показатель может увеличиваться в 3 раза [2].

В большинстве случаев этиология заболевания неизвестна. Основными методами лечения в настоящий момент являются иммуносупрессивная терапия и трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Основным диагностическим критерием является наличие аплазии/гипоплазии костного мозга по данным гистологического исследования трепанобиоптата [3]. Трепанобиопсия – это инвазивная процедура, которая заключается во взятии образца губчатой кости. У детей трепанобиопсия проводится всегда с использованием анестезиологического пособия и только из гребней подвздошных костей с обеих сторон [4].

Клеточность костного мозга как соотношение клеток гемопоэтического ряда и клеток жира может быть представлена как химическая модель распределения элементов жира, воды и белка. Костный мозг содержит до 40% жира, до 40% воды и около 20% белка [5]. Все эти параметры могут быть оценены при помощи магнитно-резонансной томографии (МРТ). Жир и вода – это две преобладающие составляющие, которые косвенно свидетельствуют о клеточности костного мозга.

Основным методом МРТ, позволяющим оценить соотношение жира и воды в любой структуре организма, является метод Диксона. В его основе лежит разница в фазовой частоте прецессии молекул воды и жира в постоянном магнитном поле. Детекция сигнала в фазе и в противофазе позволяет вычислить сигнал только воды и только жира. Рассчитанное соотношение жира и суммы сигналов жира и воды с учетом поправки на T2*-релаксацию называется фракцией жира [6].

Оценка фракции жира в органах и тканях, в том числе в костном мозге, – развивающаяся тема, которая описывается в норме и при различных патологических состояниях [7]. В настоящее время представлены данные изменения параметров МРТ костного мозга у пациентов взрослого возраста с болезнью Гоше и с множественной миеломой [8]. В детской популяции опубликованы результаты МРТ костного мозга у пациентов с острым лимфобластным лейкозом [9, 10].

Цель настоящего исследования – оценить диагностическую значимость измерения фракции жира в костном мозге у пациентов с АА младше 18 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты

Все пациенты и/или их законные представители подписали письменное согласие на участие в

исследовании. Данная работа одобрена независимым этическим комитетом, утверждена решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и соответствует Этическому кодексу Всемирной медицинской ассоциации (Хельсинкская декларация) для исследований с участием людей.

В исследование включены 66 пациентов. Основную группу составили 33 ребенка (18 девочек и 15 мальчиков) с клинически и гистологически установленным диагнозом АА в возрасте от 0 до 18 лет (медиана возраста 11,9 года (5–17 лет)). Контрольная группа состояла из 33 здоровых добровольцев (17 мальчиков и 16 девочек) в возрасте от 0 до 18 лет (медиана возраста 13,9 года (6–17 лет)) без гематологических и онкологических заболеваний в анамнезе. Демографическая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице 1.

Таблица 1
Характеристика пациентов, включенных в исследование

Table 1
The characteristics of the patients included in the study

Параметр Parameter	Группа пациентов с АА Aplastic anemia (AA) group	Группа контроля Control group
Число пациентов Number of patients	33	33
Соотношение мальчики/девочки Male-female ratio	18/15	17/16
Медиана возраста, годы Median age, years	12,95	13,9
Возраст (среднее значение + стандартное отклонение), годы Age (mean value + standard deviation), years	12,31 ± 4,39	13,03 ± 2,83

Протокол магнитно-резонансной томографии

МРТ-исследование проводилось на базе НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева на томографе Philips Achieva dStream 3T (Philips Healthcare, Best, Нидерланды) с 32-канальной приемной брюшной катушкой FlexCoverage. Представленный протокол МРТ включал изображения с использованием последовательности mDixon-quant, выполненные в коронарной плоскости с захватом костей таза и поясничного отдела позвоночника. Исследуемая импульсная градиентная последовательность регистрировалась со следующими параметрами: время повторения (TR) – 11 мс, 6 времен эхо (TE), минимальное TE (TE1) – 1,2 мс, интервал (ΔTE) – 0,8 мс; угол опрокидывания (FA) – 3° (для минимизации эффекта влияния T1-взвешенности); количество срезов – 35, толщина среза – 4 мм с зазором, составляющим –2 мм; поле обзора (FOV) – 360 × 360 мм², размер вокселя при регистрации – 3,5 × 3,5 × 4,0 мм, при реконструкции – 2,5 × 2,5 × 2,0 мм; частотное кодирование в направлении А/Р в целях снижения количества артефактов от дыхания пациента; коэффициент ускорения SENSE – 2.

Время сканирования – 1 мин 6 с. Получение карт распределения фракции жира осуществлялось автоматически на МРТ-консоли с использованием 7-пиковой жировой модели, а также с учетом необходимых поправок на T2*-взвешенность.

Зоны интереса (ROI) площадью 150 мм² для измерения фракции жира в костном мозге отмечались в телах подвздошных костей слева и справа (Ilium L, Ilium R), а также в области тел позвонков L4 и L5, избегая области сосудов, кортикального слоя кости, а также зоны возможных артефактов (рисунк 1).

Статистический анализ

Для выполнения статистической обработки данных использовались программы Jamovi 1.1.9.0.25 (the jamovi project (2021), version 1.6 (Computer Software, <https://www.jamovi.org>) и Excel 2016 (Microsoft, США). Проверка выборок на нормальность проводилась при помощи критерия Шапиро–Уилка. Для определения значимости различий между основной и контрольной группами был использован параметрический t-критерий Стьюдента. Различия считались значимыми при $p < 0,01$, все p -значения были двусторонними.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования фракции жира в костном мозге отражены в таблице 2 и на рисунке 2. Среднее значение фракции жира в костном мозге

Таблица 2

Фракция жира в костном мозге по данным МРТ в различных зонах исследования у пациентов обеих групп

Table 2

MR-based bone marrow fat fraction at different sites measured in the patients of both groups

Параметр Parameter	Группа пациентов с АА Group of patients with AA	Группа контроля Control group	p
Фракция жира в теле правой подвздошной кости ($m \pm SD$), % Fat fraction in the body of the right iliac bone ($m \pm SD$), %	83,67 $\pm$ 10,19	51,69 $\pm$ 10,59	<0,01
Фракция жира в теле левой подвздошной кости ($m \pm SD$), % Fat fraction in the body of the left iliac bone ($m \pm SD$), %	81,57 $\pm$ 11,64	50,38 $\pm$ 12,23	<0,01
Фракция жира в теле позвонка L4 ($m \pm SD$), % Fat fraction in the body of the L4 vertebra, %	73,17 $\pm$ 17,83	30,86 $\pm$ 9,54	<0,01
Фракция жира в теле позвонка L5 ($m \pm SD$), % Fat fraction in the body of the L5 vertebra, %	73,87 $\pm$ 17,31	31,99 $\pm$ 11,67	<0,01

здоровых добровольцев по всем зонам интереса составило 41%. В группе пациентов с АА этот показатель выражено увеличивался. Усредненное значение фракции жира в костном мозге во всех зонах интереса – 78%.

Возраст и значения фракции жира в костном мозге подчинялись закону нормального распределения данных. При сравнении возрастных пока-

Рисунок 1

Пример расположения ROI в области подвздошных костей и тел позвонков на картах фракции жира: А – в группе здоровых добровольцев; Б – в группе пациентов с АА

Figure 1

An example of regions of interest (ROI) in the ilium and vertebral bodies on a fat fraction map: A – in the group of healthy volunteers; Б – in the group of patients with AA

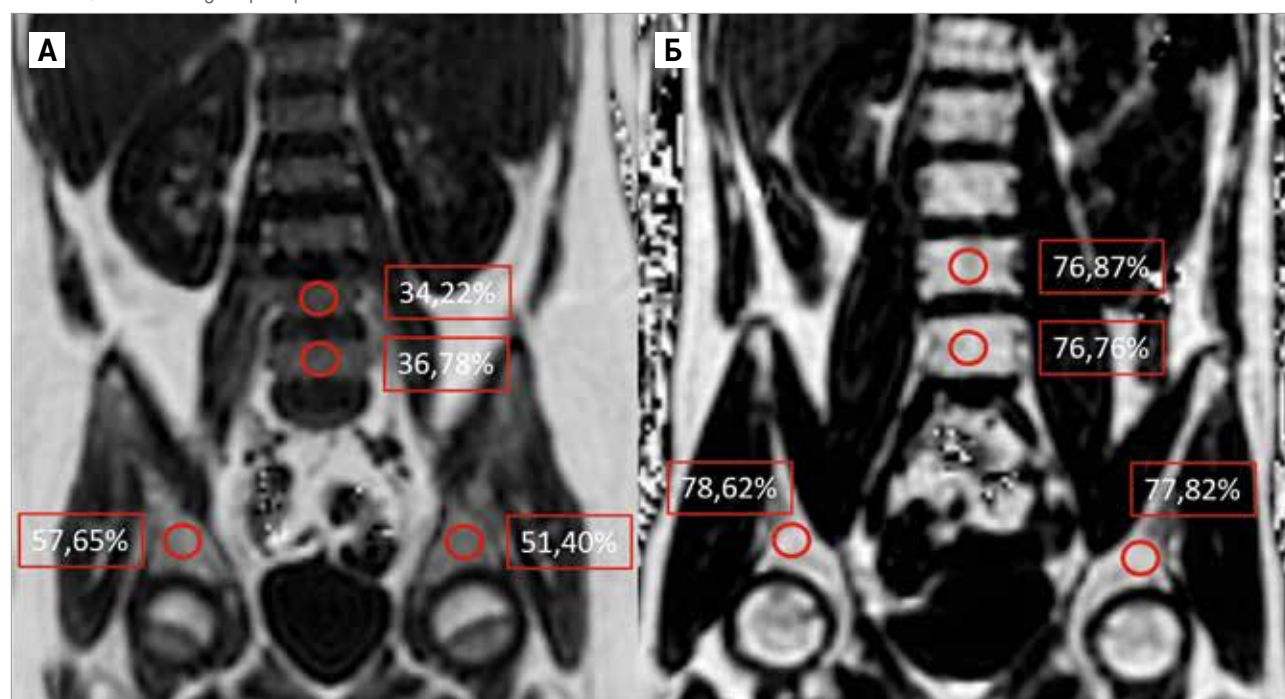


Рисунок 2

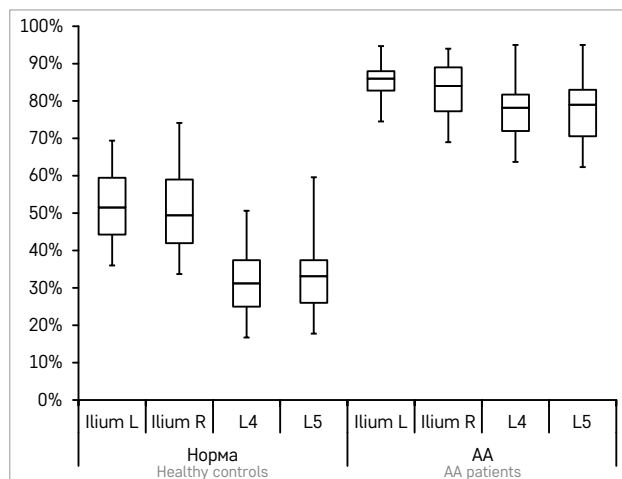
Значения фракции жира в костном мозге у пациентов с АА и в группе контроля

Ilium L – тело левой подвздошной кости; Ilium R – тело правой подвздошной кости; L4 – тело 4-го поясничного позвонка; L5 – тело 5-го поясничного позвонка

Figure 2

Bone marrow fat fraction values in the patients with AA and in the control group

Ilium L – the body of the left ilium; Ilium R – the body of the right ilium; L4 – the body of the 4th lumbar vertebra; L5 – the body of the 5th lumbar vertebra



зателей детей из обеих групп не было выявлено достоверной разницы ($p < 0,05$).

При попарном сравнении показателей фракции жира в каждом выбранном ROI между группой здоровых добровольцев и группой пациентов с АА при помощи t-критерия Стьюдента были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,01$) (рисунок 2). Однако при сравнении показателей фракции жира внутри каждой группы у здоровых добровольцев были выявлены различия в подвздошных костях и в позвонках ($p < 0,05$), в то время как у пациентов с АА этот показатель во всех костных структурах не отличался ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной работе впервые в детской популяции были выявлены изменения относительного количества фракции жира в костном мозге у пациентов с АА при помощи последовательности mDixon-quant. Мы выявили статистически значимые отличия показателя фракции жира в костном мозге во всех точках наблюдения при сравнении пациентов с АА и здоровых добровольцев. Схожие данные были получены в исследовании взрослых пациентов с таким же диагнозом. В исследовании Z. Zeng и соавт. была получена статистически значимая разница между показателями фракции жира у пациентов с АА, средний возраст которых составил $42,25 \pm 14,39$ года в сравнении со здоровыми добровольцами сходной возрастной группы [11]. В описанном исследовании изменения также проводились в области тел

подвздошных костей, средний показатель в группе пациентов с АА составил $79,46 \pm 15\%$. Показатели фракции жира в контрольной группе были несколько выше, чем в нашей выборке, – $65,50 \pm 14,73\%$. Это связано с тем, что с возрастом в норме кроветворный костный мозг подвергается жировому замещению. При помощи магнитно-резонансной спектроскопии было показано, что в группах здоровых добровольцев от 11 лет до 61 года, распределенных по возрасту с интервалом в 10 лет, количество жира в костном мозге увеличивается с 23 до 60% [12].

В нашем исследовании были выбраны зоны интереса в подвздошных костях и телах позвонков по нескольким причинам. Во-первых, в соответствии с рекомендациями трепанобиопсии у детей выполняются только из гребней подвздошных костей, тогда как у взрослых образец костного мозга может быть взят из грудины [4]. Во-вторых, подвздошные кости и позвонки – это кости осевого скелета, в которых жировая инволюция в отличие от трубчатых костей происходит довольно поздно [13]. И, в-третьих, область малого таза – это область сканирования, для которой в меньшей степени характерны артефакты от дыхания пациента.

Поясничные позвонки – это область крайне труднодоступная для биопсии, однако хорошо видимая на МРТ-изображениях. Их включение в зону сканирования и анализ показателей фракции жира в телах позвонков L4, L5 у контрольной группы показывает, что клеточность костного мозга в них в норме несколько выше, чем в позвонках, так как было зарегистрировано статистически значимое снижение фракции жира костного мозга в телах позвонков относительно тел подвздошных костей. В то время как при патологическом процессе клеточность снижается диффузно во всем костном мозге всех костей осевого скелета. Об этом свидетельствует отсутствие статистической разницы между показателями фракции жира в разных костных структурах у пациентов с АА. Схожие данные на меньшей выборке здоровых детей были ранее опубликованы при МРТ-исследовании костного мозга пациентов с острым лимфобластным лейкозом [9, 10].

Рутинные T1- и T2-взвешенные изображения могут натолкнуть врача на мысли об изменениях в костном мозге, но не дают возможности точно количественно определить его состояние [9]. Магнитно-резонансная спектроскопия – информативный, но очень требовательный для определения места установки вокселя, долгий по времени сканирования и постобработки метод, который, помимо этого, не дает возможности за одно сканирование оценить состояние более чем одной кости [14]. Альтернативный метод диагностики – позитронно-эмиссионная томография/компьютерная томография с фтордезок-

сиглюкозой. Метаболическая активность костного мозга у больных АА снижена по сравнению со здоровыми добровольцами и пациентами с другими заболеваниями [15]. Данный метод имеет ограничения ввиду высокой лучевой нагрузки и необходимости введения радиофармпрепарата.

Публикации в литературе и наши данные свидетельствуют о чувствительности метода МРТ к изменению клеточности костного мозга. МРТ является неинвазивным методом с высоким пространственным и временным разрешением. Одно сканирование позволяет получить информацию обо всех костях, попавших в зону сканирования. Длительность одной последовательности составляет около 1 мин. Возможность синхронизации с дыханием пациента позволяет исследовать любую область организма пациента. Толщина среза в 4 мм с зазором –2 мм позволяет получить также хорошее качество изображения, на котором легко определить все костные структуры.

Ограничением выполненного исследования является малое число пациентов, набранных только в одном учреждении. Помимо этого, не было выполнено

сравнение данных МРТ с гистологическими данными по результатам трепанобиопсии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методика mDixon-quant может эффективно оценивать содержание фракции жира в костных структурах. Фракция жира костного мозга может стать неинвазивным маркером аплазии кроветворения у пациентов с АА.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Статья финансировалась в рамках гранта Российского научного фонда №22-25-00553 «Новые МРТ-технологии в исследовании тканевых характеристик костного мозга при апластической анемии: возможности контроля эффективности терапии и сравнение с результатами гистопатоморфологии».

КОНФИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Kriventsova N.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4164-004X>

Tereshchenko G.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7317-7104>

Литература

1. Криволапов Ю.А. Биопсии костного мозга: научно-практическое издание. М.: Практическая медицина; 2014.
2. Кривенцова Н.А., Куприянов Д.А., Меньшиков П.Е., Терещенко Г.В. МР-биомаркер изменений костного мозга у детей с острым лимфобластным лейкозом. *Russian Electronic Journal of Radiology* 2020; 10 (4): 159–68. DOI:10.21569/2222-7415-2020-10-4-159-168
3. Hartung H.D., Olson T.S., Bessler M. Acquired aplastic anemia in children. *Pediatr Clin North Am* 2013; 60 (6): 1311–36. DOI: 10.1016/j.pcl.2013.08.011
4. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению приобретенной апластической анемии у детей. М.; 2015.
5. Криволапов А.Г. Технические аспекты выполнения трепанобиопсий костного мозга. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика* 2014; 7 (3): 290–5.
6. Chan B.Y., Gill K.G., Rebsamen S.L., Nguyen J.C. MR Imaging of Pediatric Bone Marrow. *Radiographics* 2016; 36 (6): 1911–30. DOI: 10.1148/rg.2016160056
7. Guerini H., Omoumi P., Guichoux F., Vuillemin V., Morvan G., Zins M. et al. Fat Suppression with Dixon Techniques in Musculoskeletal Magnetic Resonance Imaging: A Pictorial Review. *Semin Musculoskelet Radiol* 2015; 19 (4): 335–47.
8. Burian E., Subburaj K., Mookiah M.R.K., Rohrmeier A., Hedderich D.M., Dieckmeyer M. et al. Texture analysis of vertebral bone marrow using chemical shift encoding-based water-fat MRI: a feasibility study. *Osteoporos Int* 2019; 30 (6): 1265–74. DOI: 10.1007/s00198-019-04924-9
9. Bray T.J., Chouhan M.D., Punwani S., Bainbridge A., Hall-Craggs M.A. Fat fraction mapping using magnetic resonance imaging: insight into pathophysiology. *Br J Radiol* 2018; 91 (1089): 20170344.
10. Кривенцова Н.А., Куприянов Д.А., Меньшиков П.Е., Терещенко Г.В. МР-биомаркер изменений костного мозга у детей с острым лимфобластным лейкозом. *Russian Electronic Journal of Radiology* 2020; 10 (4): 159–68. DOI:10.21569/2222-7415-2020-10-4-159-168
11. Tereshchenko G., Kriventsova N., Kupriyanov D., Menshchikov P., Litvinov D., Novichkova G. Quantitative Bone Marrow MRI in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Biomed* 2021; 11 (2): 141–5.
12. Zeng Z., Ma X., Guo Y., Ye B., Xu M., Wang W. Quantifying Bone Marrow Fat Fraction and Iron by MRI for Distinguishing Aplastic Anemia from Myelodysplastic Syndromes. *J Magn Reson Imaging* 2021; 54 (6): 1754–60.
13. Griffith J.F., Yeung D.K.W., Ma H.T., Leung J.C.S., Kwok T.C.Y., Leung P.C. Bone marrow fat content in the elderly: a reversal of sex difference seen in younger subjects. *J Magn Reson Imaging* 2012; 36 (1): 225–30. DOI: 10.1002/jmri.23619
14. Kriventsova N., Shestopalov A., Tereshchenko G. Bone Marrow Adipocytes and Hematology: A Literature Review. *Int J Biomed* 2021; 11 (2): 123–30.
15. Aoki T., Yamaguchi S., Kinoshita S., Hayashida Y., Korogi Y. Quantification of bone marrow fat content using iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL): Reproducibility, site variation and correlation with age and menopause. *Br J Radiol* 2016; 89 (1065): 20150538. DOI: 10.1259/bjr.20150538
16. Chen M., Lu L., Li J., Zhang B., Liu J., Gu J. et al. Value of systemic PET/CT in the diagnosis and differential diagnosis of aplastic anemia. *Oncol Lett* 2018; 16 (3): 3215–22.

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 02.11.2022
Принята к печати 13.01.2023

Контактная информация:

Флоринский Дмитрий Борисович,
аспирант, врач-педиатр ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: mitia94@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-78-83

Выявляемость редких коагулопатий у детей в Российской Федерации

П.А. Жарков, Д.Б. Флоринский, О.В. Алейникова, Г.А. Новичкова

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

Редкие коагулопатии составляют около 3–5% всех наследственных коагулопатий. В связи с крайне редкой встречаемостью и сложностью диагностики данные о реальной распространенности сильно варьируют. На данный момент в Российской Федерации (РФ) нет единого регистра пациентов с редкими наследственными коагулопатиями, а их распространенность на территории нашей страны не изучена. Цель – провести анализ выявляемости редких коагулопатий у детского населения в РФ. В данном многоцентровом исследовании использованы ретроспективные неперсонифицированные данные пациентов, полученные в ходе рутинной клинической практики, поэтому оно не требовало одобрения этического комитета. Ретроспективно были проанализированы заполненные анкеты с указанием числа детей от 0 до 18 лет из 72 субъектов РФ с редкими коагулопатиями. Анкетирование проводилось с апреля по июнь 2022 г. Анализировали число детей с дефицитом I, II, V, VII, X, XI, XIII факторов, а также с сочетанным дефицитом факторов и пациентов с неуточненным геморрагическим состоянием. Согласно полученным данным, общее число пациентов с редкими коагулопатиями составляет 398 человек, наиболее распространенной патологией является дефицит VII фактора – 52% ($n = 210$), второе место занимает дефицит фибриногена – 16% ($n = 63$), третье – дефицит X фактора – 12% ($n = 48$), четвертое – дефицит XI фактора – 9% ($n = 35$), пятое – дефицит V фактора – 5% ($n = 20$), шестое – дефицит XIII фактора – 4,5% ($n = 18$), далее идут комбинированные дефициты – 1,7% ($n = 7$) и замыкает список дефицит II фактора – 1% ($n = 4$). Для объективного подсчета пациентов с редкими коагулопатиями, характеристики клинических проявлений и определения потребности в концентратах факторов требуется создание единого общероссийского регистра по примеру регистра пациентов с гемофилией.

Ключевые слова: редкие коагулопатии, дети, кровотечения, регистр, концентрат фактора

Жарков П.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 78–83.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-78-83

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 02.11.2022
Accepted 13.01.2023

The prevalence of rare bleeding disorders among children in the Russian Federation

P.A. Zharkov, D.B. Florinskiy, O.V. Aleynikova, 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

Rare bleeding disorders account for about 3–5% of all inherited bleeding disorders. Due to the rarity and complexity of diagnosing these disorders, their prevalence estimates vary greatly. There is currently no national registry of rare inherited bleeding disorders and their prevalence across the country has not been studied yet. Aim: to estimate the prevalence of rare coagulation disorders among Russian children. For this multicenter study, we used retrospective anonymous patient data collected during clinical practice, so the approval of the ethics committee was not required. We analyzed completed questionnaires containing the number of patients with rare bleeding disorders aged from 0 to 18 years from 72 subjects of the Russian Federation. The survey had been conducted from April to June 2022. Our analysis included patients with deficiencies of factor I, II, V, VII, X, XI or XIII, as well as with combined factor deficiencies and unspecified hemorrhagic conditions. According to the reported data, the total number of children with rare bleeding disorders is 398. The most common disorder is deficiency of factor VII (52%, $n = 210$); it is followed by fibrinogen deficiency (16%, $n = 63$) and deficiency of factor X (12%, $n = 48$). Deficiencies of factors XI, V and XIII account for 9% ($n = 35$), 5% ($n = 20$), and 4.5% ($n = 18$) of all cases, respectively. Combined factor deficiency was diagnosed in 1.7% of patients ($n = 7$) and factor II deficiency was detected in only 1% of patients ($n = 4$). In order to determine the actual prevalence and incidence of rare coagulation disorders and their clinical manifestations and to identify the need for factor concentrates, it is necessary to establish a national registry of rare bleeding disorders, following the example of the national hemophilia registry.

Key words: rare bleeding disorders, children, bleeding, registry, factor concentrate

Zharkov P.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 78–83.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-78-83

Редкие коагулопатии (РК) составляют в среднем 3–5% всех наследственных коагулопатий, в основном имеют аутосомно-рецессивный тип наследования, частота их распространения варьирует от 1 на 500 000 для дефицита VII фактора до 1 на 2 000 000 для дефицита протромбина и XIII фактора. Распространенность РК выше в тех местах, где люди

живут очень компактно и распространены близкородственные браки [1].

Выраженность клинических проявлений варьирует от абсолютно бессимптомного течения до выраженного геморрагического синдрома, приводящего зачастую к инвалидизации или даже к смерти [2]. Особенностью РК является также отсутствие

или слабая корреляция выраженности геморрагического синдрома и активности дефицитного фактора, что определяет трудности при назначении заместительной терапии концентратами фактора в отличие от известных заболеваний – гемофилии А, В и болезни Виллебранда, для которых выработаны четкие критерии назначения терапии [3].

В связи с крайне низкой встречаемостью и отсутствием единого регистра очень трудно оценить истинную распространенность и выраженность клинических проявлений. Одним из факторов, ограничивающих выявляемость данных патологий, является отсутствие хорошей диагностической лаборатории на местах, недофинансирование и слабая осведомленность врачей о данных дефицитах [4]. По данным Всемирной организации гемофилии, наиболее распространенным является дефицит VII фактора, затем следует дефицит XI и V факторов [1]. При этом в странах Азии наблюдается совершенно другая распространенность с преобладанием пациентов с дефицитом XIII и X факторов [5, 6]. Некоторые выводы о числе пациентов с различными РК в Российской Федерации (РФ) и тяжести у них геморрагических проявлений можно сделать по работам, проведенным на базах ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России и ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, но эти центры являются федеральными, а не региональными, это означает, что к ним не прикреплено население и пациенты попадают в них по направлению из региональных медицинских учреждений, т. е. выборка данных больных не является репрезентативной [7, 8].

На данный момент в РФ не существует единого регистра пациентов с РК, поэтому оценить истинную, а не предполагаемую распространенность представляется трудной задачей. Тем не менее нами была поставлена задача при помощи региональных центров попытаться оценить число детей с РК на территории РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данном многоцентровом исследовании использованы ретроспективные неперсонифицированные данные пациентов, полученные в ходе рутинной клинической практики, поэтому оно не требовало одобрения этического комитета. Исследование носило наблюдательный характер. В каждый регион была направлена анкета, в которой требовалось указать число пациентов в возрасте до 18 лет с тем или иным диагнозом РК, находящихся на учете у детского гематолога в области/регионе. Требовалось назвать число пациентов с дефицитом I, II, V, VII, X, XI, XIII факторов, комбинированным дефицитом, а

также число детей с геморрагическим синдромом, у которых не уточнен диагноз.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На момент написания статьи в составе РФ выделяли 85 субъектов: 22 республики, 9 краев, 1 автономную область, 4 автономных округа, 46 областей и 3 города федерального значения (рисунки 1) [9].

Из 85 субъектов заполненную анкету мы получили из 72 регионов, что составляет 85%. Анкеты не были получены от следующих регионов: город Севастополь (детское население 100 541 человек), Чукотский автономный округ (детское население 12 422 человек), Ненецкий автономный округ (детское население 12 009 человек), Ямало-Ненецкий автономный округ (детское население 144 517 человек), Еврейский автономный округ (детское население 36 324 человек), Сахалинская область (детское население 107 150 человек), Новгородская область (детское население 116 831 человек), Магаданская область (детское население 29 028 человек), Костромская область (детское население 128 834 человек), Приморский край (детское население 374 896 человек), Пермский край (детское население 582 212 человек), Республика Калмыкия (детское население 64 654 человек), Республика Ингушетия (детское население 158 504 человек) [9].

Все анкеты, полученные нами, были верно заполнены и признаны годными для дальнейшего статистического анализа. Число пациентов, выявленное по результатам статистического анализа, представлено в таблице 1.

Общее число детей с уточненными РК составило 398 человек, наиболее распространенной патологией является дефицит VII фактора – 52% ($n = 210$), второе место занимает дефицит фибриногена – 16% ($n = 63$), третье – дефицит X фактора – 12% ($n = 48$), четвертое – дефицит XI фактора – 9% ($n = 35$), пятое – дефицит V фактора – 5% ($n = 20$), шестое – дефицит XIII фактора – 4,5% ($n = 18$), далее идут комбинированные дефициты – 1,7% ($n = 7$) и замыкает список дефицит II фактора – 1% ($n = 4$) (рисунки 2).

Детское население в представленных регионах составляет 28 515 419 человек. По расчетам распространенности были получены следующие данные: дефицит фибриногена – 1:450 000, дефицит II фактора – 1:7 000 000, дефицит V фактора – 1:1 500 000, дефицит VII фактора – 1:150 000, дефицит X фактора – 1:600 000, дефицит XI фактора – 1:800 000, дефицит XIII фактора – 1:1 500 000.

Отдельно были проанализированы пациенты с РК по округам РФ относительно численности детского населения (таблица 2, рисунок 3).

Рисунок 1

Карта РФ (источник: <https://www.tourprom.ru/news/46432/?#bounce>)

Figure 1

A map of the Russian Federation (source: <https://www.tourprom.ru/news/46432/?#bounce>)

Таблица 1

Число пациентов с РК

Table 1

The number of patients with rare bleeding disorders

РК Type of rare bleeding disorder	Значение Value
Дефицит I фактора Fibrinogen deficiency	63
Дефицит II фактора Factor II deficiency	4
Дефицит V фактора Factor V deficiency	20
Дефицит VII фактора Factor VII deficiency	210
Дефицит X фактора Factor X deficiency	48
Дефицит XI фактора Factor XI deficiency	35
Дефицит XIII фактора Factor XIII deficiency	18
Комбинированный дефицит Combined deficiency	7
Геморрагическое состояние неуточненное Unspecified hemorrhagic syndrome	321

Рисунок 2

Распространенность РК

Figure 2

The distribution of rare bleeding disorders

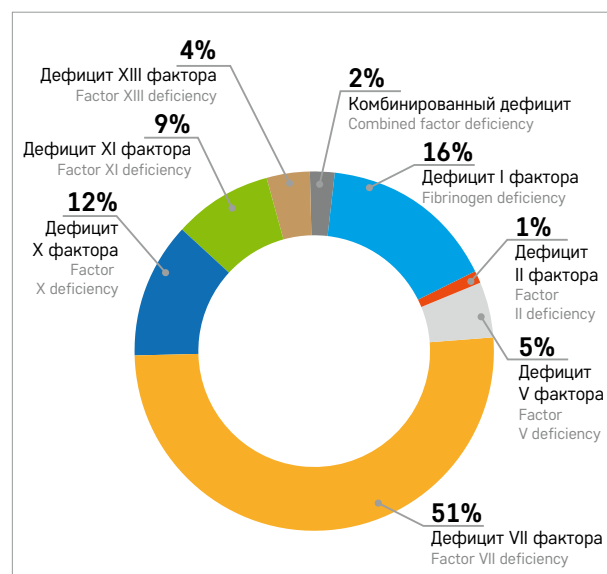


Таблица 2
Федеральные округа РФ и число детей с РК

Table 2
Federal districts (FD) of Russia and the number of children with rare bleeding disorders

Параметр Parameter	Федеральный округ, численность детского населения FD, the population of children							
	Центральный, 7 207 281 The Central FD, 7 207 281	Приволжский, 6 021 504 The Volga FD, 6 021 504	Сибирский, 3 813 914 The Siberian FD, 3 813 914	Южный, 3 337 319 The Southern FD, 3 337 319	Уральский, 2 803 655 The Ural FD, 2 803 655	Северо- Западный, 2 667 774 The Northwestern FD, 2 667 774	Северо- Кавказский, 2 654 251 The North Caucasian FD, 2 654 251	Дальнево- сточный, 1 877 643 The Far Eastern FD, 1 877 643
Дефицит II фактора Factor II deficiency	1	0	0	1	0	1	1	0
Дефицит V фактора Factor V deficiency	8	2	0	2	1	6	0	0
Дефицит VII фактора Factor VII deficiency	77	12	21	15	10	69	3	3
Дефицит X фактора Factor X deficiency	8	1	3	8	4	23	1	0
Дефицит XI фактора Factor XI deficiency	14	7	1	1	1	9	2	0
Дефицит XIII фактора Factor XIII deficiency	3	2	3	1	2	5	0	2
Дефицит I фактора Fibrinogen deficiency	26	21	0	3	5	6	1	1
Общее число Total number	137	45	28	31	23	119	8	6

Рисунок 3
Федеральные округа на карте РФ (источник:
https://ru.wikipedia.org/wiki/Федеральные_округа_Российской_Федерации)

Figure 3
Federal districts on a map of Russia (source: https://ru.wikipedia.org/wiki/Федеральные_округа_Российской_Федерации)



По данным Росстата, в РФ на 01.01.2021 детское население от 0 до 17 лет включительно составляло 30 383 341 человек [9].

Число детей в регионах, принявших участие в данном исследовании, составило 28 515 419 человек. Учитывая международные данные [3] по распространенности редких дефицитов, можно примерно составить ожидаемую и реальную картины для каждого дефицита (таблица 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью нашего исследования была попытка оценить выявляемость пациентов детского возраста с РК. Безусловно, показатели, полученные в ходе

Таблица 3
Сравнение распространенности РК

Table 3
A comparison of the prevalence of rare bleeding disorders

Дефицит фактора Factor deficiency	Ожидаемая распространенность Expected prevalence	Картина в РФ Actual prevalence in Russia
I	1:1 000 000	1:450 000
II	1:2 000 000	1:7 000 000
V	1:1 000 000	1:1 500 000
VII	1:300 000 – 500 000	1:150 000
X	1:1 000 000	1:600 000
XI	1:1 000 000	1:800 000
XIII	1:2 000 000	1:1 500 000

данной работы, не могут напрямую указывать на распространенность данных заболеваний, однако позволяют оценить актуальность дальнейшего

изучения этой проблемы в нашей стране. Данное исследование было сугубо добровольным и не предусматривало уточнения диагноза и других форм контроля.

При сопоставлении полученных в ходе анкетирования результатов с международными данными [3] были выявлены достаточно противоречивые сведения. Дефицит VII фактора, как и во многих других странах [10–13], преобладает. Второе место по распространенности занимает дефицит фибриногена, что уже было показано на примерах исследования РК в РФ [7, 8]. При этом далее следует дефицит X фактора и только четвертое место занимает дефицит XI фактора, также получена достаточно высокая распространенность дефицита XIII фактора. Такие данные по распространенности более характерны для Индии и Ирана, чем для европейской популяции (рисунк 4) [5, 6, 14].

При сравнении с параметрами общемировой распространенности обращает на себя внимание почти полное отсутствие пациентов с дефицитом II фактора, а также достаточно большое число детей с дефицитом X и XIII факторов. Большое число пациентов с дефицитом фибриногена, вероятнее всего, объясняется методикой подсчета: в некоторых странах принято учитывать пациентов лишь с выраженным снижением фибриногена – менее 0,5 г/л, у нас же принято считать патологией снижение активности данного показателя ниже 1,5 г/л. Тем не менее следует особо отметить, что такие различия могли быть обусловлены локальными особенностями диагностики, так как в нашей стране наряду с достаточно высокой частотой исследований стандартной коагулограммы в большинстве регионов недоступен факторный анализ за исключением исследования активности VIII и IX факторов.

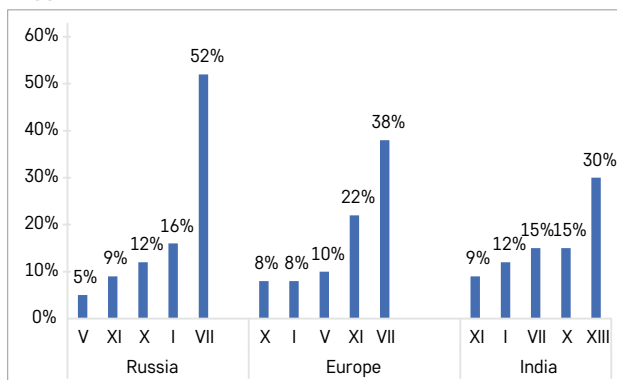
При подробном разборе числа пациентов по округам не представляется возможным проследить какую-либо корреляцию между числом детей с РК и численностью детского населения. Так, при

Рисунок 4

Распространенность РК в разных странах

Figure 4

The prevalence of rare bleeding disorders in different countries



почти одинаковом числе детей в Северо-Западном и Северо-Кавказском федеральных округах наблюдается колоссальная разница в числе пациентов – 119 и 8 соответственно. Такую разницу невозможно объяснить редкой встречаемостью данной патологии. Объяснением может служить тот факт, что в отдельных регионах имеется выраженная гиподиагностика и данные пациенты направляются в федеральные центры, где им устанавливается диагноз и где, по всей видимости, они попадают на учет. При этом регион, отправивший данных пациентов, не получает эту информацию. Также, по нашему мнению, имеет место гиподиагностика и в Центральном округе, так как при населении, в 3 раза превосходящем Северо-Западный федеральный округ, число пациентов почти идентично. В целом регионы, находящиеся на западе страны, показывают иную встречаемость РК с крайне высоким числом пациентов с дефицитом VII, X, XI факторов и малым числом детей с гипофибриногенемией, что ближе к европейским данным [3].

На данный момент в нашей стране есть успешно функционирующий регистр для пациентов с гемофилиями A и B, а также с болезнью Виллебранда [15]. Данные коагулопатии намного чаще распространены в популяции и осведомленность о них как у врачей, так и у пациентов гораздо выше. Такой регистр очень удобен для уточнения реального числа пациентов, выраженности клинических проявлений, а также для подсчета необходимого количества концентратов факторов, необходимого для лечения каждого конкретного пациента.

Ранее нами были опубликованы данные по детям с РК, обращавшимся в наш Центр с 2017 по 2019 г. Интересно, что полученные в ходе этого исследования данные по числу пациентов с дефицитом VII фактора и гипофибриногенемией сопоставимы с результатами проведенного анкетирования. При этом в ранее опубликованном исследовании был всего лишь 1 пациент с дефицитом X фактора и ни одного больного с дефицитом XIII фактора [7]. В текущей работе были выявлены 48 пациентов с дефицитом X фактора и 18 детей с дефицитом XIII фактора, эти данные являются крайне необычными и требуют дальнейшего уточнения. Отдельно хочется отметить, что только в детской популяции населения обнаружены 18 пациентов с дефицитом XIII фактора. Данный дефицит является тяжелым, приводящим к инвалидизации и зачастую требует пожизненного профилактического лечения [16], однако концентрат XIII фактора, равно как X и XI факторов, до сих пор не зарегистрирован на территории РФ.

Нами не были получены данные из некоторых регионов РФ, численность детского населения в которых составляет 186 922 (6,1%) человека, однако

влияние их вклада на полученную картину нам представляется сомнительным. Также специалистами из регионов была отдельно заполнена графа «пациенты с геморрагическим синдромом неуточненным», их число составило 321 человек. На данный момент не представляется возможным оценить, насколько полноценным было обследование и насколько выраженным геморрагический синдром, таким образом, эта группа требует дальнейшего подробного анализа и попытки установления диагноза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая полученные нами результаты и мировой опыт по ведению пациентов с РК, можно сделать вывод о том, что для более точного понимания распространенности, клинических проявлений и терапевтических опций требуется создание общероссийского регистра РК по опыту регистров пациентов с гемофилиями А и В и болезнью Виллебранда с обязательным заполнением каждым регионом. Таким образом, мы сможем отследить число пациентов, нуждающихся в терапии. Данный опрос регионов является первым шагом в сторону организации большого регистра РК на территории РФ для усовершенствования оказания специализированной медицинской помощи пациентам с такими крайне редкими патологиями. Следующим этапом планируется оценка трудностей диагностики, выраженности геморрагических проявлений и необходимости заместительной терапии.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Наше исследование имело ретроспективный характер, было проведено на базе ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, лимитация по возрасту составила 0–18 лет, и ограничено данными, полученными от регионов, заполнивших анкету.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Коллектив авторов выражает особую благодарность всем коллегам, принявшим участие в опросе.

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/0000-0003-4555-9337>

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

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

Литература

- Mannucci P.M., Duga S., Peyvandi F. Recessively inherited coagulation disorders. *Blood* 2004; 104: 1243–52.
- Palla R., Peyvandi F., Shapiro A.D. Rare bleeding disorders: diagnosis and treatment. *Blood* 2015; 125 (13): 2052–61.
- Peyvandi F., Spreafico M. National and international registries of rare bleeding disorders. *Blood Transfus* 2008; 6 (Suppl 2): s45–8.
- Shapiro A.D., Soucie J.M., Peyvandi F., Aschman D.J., DiMichele D.M. Knowledge and therapeutic gaps: a public health problem in the rare coagulation disorders population. *Am J Prev Med* 2011; 41 (6 Suppl 4): S324–31.
- Dorgalaleh A., Alavi S.E., Tabibian S., Soori S., Moradi E., Bamedi T. Diagnosis, clinical manifestations and management of rare bleeding disorders in Iran. *Hematology* 2017; 22 (4): 224–30.
- Mahmood R., Mahmood A., Khan M., Ali S., Khan S.A., Jaffar S.R. Rare bleeding disorders: spectrum of disease and clinical manifestations in the Pakistani population. *Blood Res* 2020; 55 (3): 146–50. DOI: 10.5045/br.2020.2020035.
- Флоринский Д.Б., Пшонкин А.В., Полетаев А.В., Федорова Д.В., Серегина Е.А., Жарков П.А. Редкие коагулопатии у детей: на пути к созданию локального регистра. *Тромбоз, гемостаз и реология* 2021; (2): 61–9.
- Яковлева Е.В., Коняшина Н.И., Горгидзе Л.А., Суринов В.Л., Пшеничникова О.С., Полеводова О.А. и др. Наследственный дефицит фактора свертывания крови V: клинические наблюдения. *Гематология и трансфузиология* 2019; 64 (4): 489–503. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-489-503
- [Electronic resource]. URL: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Bul_chislen_nasel-pv_01-01-2021.pdf. (accessed 01.11.2022).
- Gupta S., Acharya S., Roberson C., Lail A., Soucie J.M., Shapiro A. Potential of the Community Counts registry to characterize rare bleeding disorders. *Haemophilia* 2019; 25 (6): 1045–50. DOI: 10.1111/hae.13847
- Giampaolo A., Abbonizio F., Arcieri R., Hassan H.J. Italian Registry of Congenital Bleeding Disorders. *J Clin Med* 2017; 6 (3): 34. DOI: 10.3390/jcm6030034
- Maas D.P.M.S.M., Saes J.L., Blijlevens N.M.A., Cnossen M.H., den Exter P.L., Kruis I.C., et al.; Schols SEM; RBiN study group. Treatment of patients with rare bleeding disorders in the Netherlands: Real-life data from the RBiN study. *J Thromb Haemost* 2022; 20 (4): 833–44. DOI: 10.1111/jth.15652
- Peyvandi F., Palla R., Menegatti M., Siboni S.M., Halimeh S., Faeser B., et al.; European Network of Rare Bleeding Disorders Group. Coagulation factor activity and clinical bleeding severity in rare bleeding disorders: results from the European Network of Rare Bleeding Disorders. *J Thromb Haemost* 2012; 10 (4): 615–21. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04653.x
- Shetty S., Shelar T., Mirgal D., Nawadkar V., Pinto P., Shabhad S., et al. Rare coagulation factor deficiencies: a countrywide screening data from India. *Haemophilia* 2014; 20 (4): 575–81. DOI: 10.1111/hae.12368
- Зозуля Н.И., Андреева Т.А., Вдовин В.В., Перина Ф.Г. Регистр пациентов с ингибиторной формой гемофилии в Российской Федерации. Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины 2015; (1).
- Флоринский Д.Б., Пшонкин А.В., Полетаев А.В., Фёдорова Д.В., Серёгина Е.А., Урсулёнок Е.В. и др. Дефицит XIII фактора – там, где мы можем спасти. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2021; 8 (4): 90–4.

Assessment of bone mineral density and bone turnover markers in patients with juvenile idiopathic arthritis

S.G. Soliman, D.A. Nofal, A.A. Labeeb, R.S. El Zaiat, D.S. Fotoh

Menoufia University, Egypt

Correspondence:

Dalia Ahmed Nofal, Menoufia University
Address: Shebin El Kom,
32511 Menoufia, Egypt
E-mail: Dalia.saad@med.menoufia.edu.eg

Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is one of the most common chronic inflammatory diseases occurring in childhood, associated with decreased bone mineral density (BMD) and increased risk of osteopenia and osteoporosis, which increases the fracture risk. Aim of the work: to assess BMD and bone turnover markers (serum osteocalcin for bone formation and C terminal telopeptide of type 1 collagen for bone resorption) in JIA patients and their relation to disease activity. This study included 50 patients with JIA (female:male – 20:30). The study was approved by the Ethical Research Committee and Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Menoufia University, Egypt (Approval number: 19519INTPH48). Written informed consent was obtained from each patient or the parents.

These patients were diagnosed with JIA according to the criteria of classification of the International League of Associations for Rheumatology. BMD was measured by Dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) of the lumbar spine using the Z-score. The results were correlated with JIA disease duration, disease activity, bone turnover markers and serum level of vitamin D. Clinical disease activity was evaluated by juvenile arthritis disease activity score (JADAS-27). There was a significant negative correlation between DEXA Z-score and disease activity (p -value < 0.001), bone turnover markers (p -value < 0.001), and duration of JIA (p -value < 0.05). There was a significant difference between vitamin D level and DEXA Z-score; DEXA Z-score was lower in vitamin D deficient patients. JIA patients with higher disease activity are at a higher risk of osteopenia and osteoporosis. Well-timed and efficient treatment of JIA and proper control of disease activity may help to improve the bone status and reduce the incidence of osteoporosis. Consequently, valuable targeted interventions are essential to preserve bone health during JIA.

Key words: bone mineral density, bone turnover markers, osteoporosis, juvenile idiopathic arthritis

Soliman S.G., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 84–9.

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-84-89

Childhood is a very important time to build a strong musculoskeletal system. Factors influencing bone structure and quality are genetic background, organ function, chronic systemic illnesses, medications, and muscular disorders as well as metabolic disorders [1].

Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is one of the most common chronic inflammatory diseases that occur in children and adolescents under the age of 16 years [2]. In patients with JIA, as happens in other children with chronic diseases, bone accrual may be inhibited by direct and indirect mechanisms [3].

The disease itself, as well as many other factors, is associated with decreased bone mineral density (BMD) in JIA patients such as low physical activity, reduced joint motility [4], delayed pubertal maturation, malnutrition, early onset of JIA, and its treatments [5]. Decreased BMD is associated with an increased risk of osteopenia and osteoporosis, which increases the risk of fracture [6].

Osteoporosis arises when the amount of bone resorbed exceeds the amount of newly formed bone, resulting in a net loss of bone mass, according to the World Health Organization [7].

Increasing awareness among pediatricians to identify risk factors and the clinical conditions or diseases that could lead to the development of osteoporosis made their screen for the possibility of asymptomatic osteoporosis in children with rheumatological disease [7].

Dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) of the lumbar spine using the Z-score is the gold standard method for the measurement of BMD in the pediatric age group. As bone density varies with age, Z-score is used in the pediatric population and not the T-score, which is usually used in adults [7].

Bone turnover markers are tools that detect the dynamics of bone remodeling concerning the bone formation and resorption [7]. This study aimed to assess BMD and bone turnover markers (serum osteocalcin for bone formation and C terminal telopeptide of type 1 collagen (CTX) for bone resorption) in JIA patients and their relation to disease activity.

MATERIAL AND METHODS

An observational cross-sectional study included 50 patients diagnosed and assessed clinically as JIA.

They were randomly recruited from Physical Medicine, Rheumatology, and Rehabilitation Clinic, Menoufia University Hospitals during the years 2020–2022. The study included both sexes. Twenty patients were females (40%) and thirty were males (60%). Their age ranged from 6 to 16 years. Their disease duration ranged from 1.5 to 8 years.

Patients were diagnosed with JIA according to the criteria of classification of the International League of Associations for Rheumatology (ILAR) [8], with a disease duration of more than one year, all patients are under medical treatment for JIA, and patients' ages ranged from (5 to 16) years old.

Patients with a history of receiving corticosteroids, patients receiving concomitant osteotoxic drugs not prescribed for JIA and cause affection of BMD e.g. heparin, warfarin, anticonvulsants, thyroid hormone, and cancer therapy, patients having any other autoimmune diseases, patients with a history of other chronic diseases causing osteoporosis e.g. (endocrinal, hematologic, and renal diseases), and patients with neurological disorders e.g. cerebral palsy and spasticity were excluded from the study. The study was approved by the Ethical Research Committee and Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Menoufia University, Egypt (Approval number: 19519INTPH48). Written informed consent was obtained from each patient or the parents.

All patients were subjected to demographic data recording (age, sex, height, weight, and body mass index), history taking, and clinical examination, including general examination [9] and local examination of joints [10].

Assessment of disease activity was done using the juvenile arthritis disease activity score (JADAS-27) [11], which includes 4 items: physician global assessment of disease activity measured on a 0–10 visual analog scale (VAS) where 0 – no activity and 10 – maximum activity, parent/patient global assessment measured on a 0–10 VAS where 0 – very well and 10 – very poor, number of active joints, and erythrocyte sedimentation rate (ESR) normalized to a (0 to 10) scale.

JADAS 27 = Active joint count + physician global + parent global + ESR. The total JADAS score range from 0–57 [11].

All the patients underwent a DEXA scan on the lumbar spine using the lunar DPX DEXA System (analysis version 14.10) manufactured by General Electric GE Healthcare from the United States. The technologist performing the scan is responsible for proper positioning of the patient, selecting regions of interest (ROI), and careful evaluation of the DEXA results [12]. The reported pediatric DEXA value is expressed as a percentile or a standard deviation score, the Z-score by the same radiologist.

Radiography (X-ray on lumbar spine) is a valuable imaging tool for detecting vertebral fractures in children and adolescents [13].

The standard method for assessment of the height and shape of the T4 to L4 vertebral bodies is lateral thoracic and lumbar spine radiographs. The summation caused by overlying structures such as intra-thoracic organs and the patient's shoulders makes the visualization of the vertebral levels from T1 to T3 difficult and so they are excluded from the routine assessment. The normal physiological wedging that may be seen in the mid-thoracic vertebrae (T5 to T7) should not be mistaken for fracture [14].

All patients were tested for complete blood count (CBC), ESR, C-reactive protein (CRP) titer, albumin/creatinine ratio, serum calcium (total and ionized), phosphorus, magnesium, parathyroid hormone, 25-hydroxyvitamin D3, and bone turnover markers: serum osteocalcin for bone formation and CTX for bone resorption.

Human C – telopeptide of type 1 collagen kit was used which is measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA); using Bio-Rad PR4100 ELISA reader, from Germany. Samples for CTX-I were collected in the morning hours in the fasted state (fasting for 12 hours). CTX-I exhibits a circadian rhythm in the blood which remains unchanged in various scenarios [15].

According to the International Society for Clinical Densitometry, a Z-score of -2.0 or lower is defined as below the expected range for age, and a Z-score above -2.0 is within the expected range for age [15]. In the pediatric population, osteoporosis is a clinical diagnosis. Patients with a BMD Z-score less than or equal to -2.0 in combination with a clinically significant fracture are diagnosed to have osteoporosis [16].

Regarding disease activity score (JADAS 27), there was a cutoff score of 1 for classifying a patient as having the inactive disease for all JIA categories with a cutoff point for the classification of minimal disease activity of 1: 2 for oligoarticular JIA and 1: 3.8 for polyarticular JIA. Children with systemic arthritis, rheumatoid factor (RF) positive polyarthritis, RF-negative polyarthritis, or extended oligoarthritis were included in the polyarthritis group. The oligoarthritis group included patients with persistent oligoarthritis. Patients with JIA classified in the remaining ILAR categories were assigned to the polyarthritis or oligoarthritis group based on the number of joints affected during the disease course (> 4 or < 4, respectively). Values above the cutoff points for classification of active disease state (JADAS > 3.2 and JADAS > 5.2 for oligoarticular and polyarticular JIA, respectively) [17].

Statistical analysis

Data were collected, tabulated, and statistically analyzed using an IBM-compatible personal computer with Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 23 [18]. Qualitative data were expressed as number (N) and percentage (%), while quantitative data were expressed as mean ($\bar{x}$), standard deviation (SD), and range (minimum-maximum). For quantitative data, Mann-Whitney tests [19] and Kruskal-Wallis tests were used. Spearman correlation was used to show a correlation between two continuous not normally distributed variables [20]. Significant test results were quoted as two-tailed probabilities. The significance of the obtained results was judged at the 5% level ($p > 0.05$).

RESULTS

This study included 50 patients, 20/50 females (40%) and 30/50 males (60%). The mean age was 12.81 ± 3.15 years, ranging from 6–16 years.

This study showed that 36% of patients had low BMD (Z-score ≤ 2) and 64% of patients had normal BMD (Z-score > 2) by DEXA of the lumbar spine. On the other hand, no patient was given a diagnosis of osteoporosis (BMD Z-score ≤ -2 with a significant fracture history) and an X-ray of the lumbar spine was normal in 100% of the patients (table 1).

Regarding vitamin D classification, 40% of patients had a normal level, 34% of patients had an insufficient level and 26% of patients had a deficient level of vitamin D (table 2).

There was a highly significant difference between types of JIA and DEXA Z-score; DEXA Z-score is lower in polyarticular RF +ve type and enthesitis-related type than other types. It also showed a significant difference between vitamin D level and DEXA Z-score; DEXA Z-score is lower in vitamin D deficient patients (table 3).

There was a significant positive correlation between disease activity (JADAS-27) and bone turnover markers (serum osteocalcin with p -value < 0.05 and serum CTX with p -value < 0.001 (table 4, figure).

Also this study showed a significant negative correlation between disease activity (JADAS-27) and vitamin D level (p -value < 0.05) (table 4).

There was a significant negative correlation between BMD (DEXA Z-score) and duration of JIA (p -value < 0.05), disease activity (JADAS-27) (p -value < 0.001), and bone turnover markers (p -value < 0.001) (table 5).

DISCUSSION

Low BMD is a common finding in children with JIA associated with an increased risk of osteopenia

Table 1
Radiological parameters in the patients ($n = 50$)

Radiological parameters	Distribution
DEXA Z-score (lumbar spine): Range Mean $\pm$ SD	–1.3...–3.8 –1.94 $\pm$ 0.69
Classification of BMD according to Z-score, n (%): low BMD (Z-score < -2) normal (Z-score > -2)	18 (36) 32 (64)
X-ray (lumbar spine), n (%): normal	50 (100)

Note. SD – standard deviation, range (minimum–maximum).

Table 2
Vitamin D level in patients ($n = 50$)

Vitamin D	Distribution
Vitamin D, ng/ml: range mean $\pm$ SD	10–32.8 25.19 $\pm$ 6.24
Vitamin D classification, n (%): normal (> 30 ng/ml) insufficient (21–29 ng/ml) deficient (< 20 ng/ml)	20 (40) 17 (34) 13 (26)

Table 3
Comparison between BMD (DEXA Z-score) versus types of JIA, and vitamin D level

Parameter	DEXA Z-score			
	Mean $\pm$ SD	Range	Test of significance	p -value
Type of JIA: polyarticular RF +ve polyarticular RF –ve systemic onset oligoarticular enthesitis related	–2.60 $\pm$ 0.12 –1.60 $\pm$ 0.09 –1.36 $\pm$ 0.05 –1.51 $\pm$ 0.09 –2.53 $\pm$ 1.07	–2.4... –2.7 –1.5... –1.7 –1.3... –1.4 –1.4... –1.6 –1.6... –3.8	39.459 (Kruskal-Wallis test)	$< 0.001^{**}$
Vitamin D: normal insufficient deficient	–1.64 $\pm$ 0.35 –2.059 $\pm$ 0.52 –2.25 $\pm$ 1.04	–1.3... –2.4 –1.5... –2.7 –1.3... –3.8	6.017 (Kruskal-Wallis test)	0.049*

Note * – significant ($p < 0.05$); ** – highly significant ($p < 0.001$).

Table 4
Correlation between JADAS-27 versus laboratory parameters

Laboratory parameters	JADAS-27	
	r_{rho}	p -value
Vitamin D, ng/ml	–0.428	0.002*
Bone turnover markers, ng/ml: serum osteocalcin Serum CTX	0.389 0.702	0.005* $< 0.001^{**}$

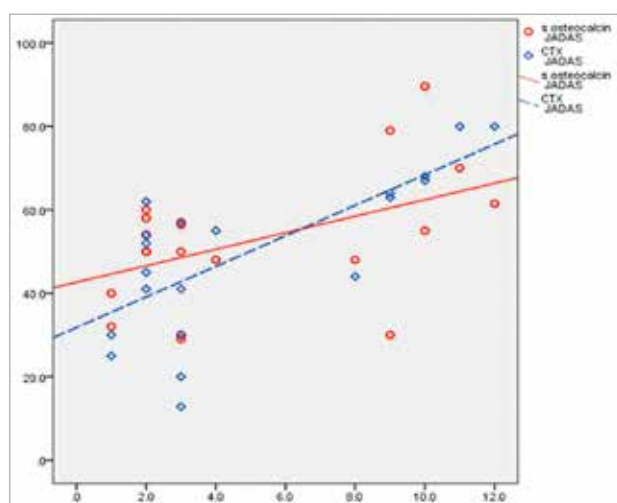
Note * – significant ($p < 0.05$); ** – highly significant ($p < 0.001$).

Table 5
Correlation between BMD (DEXA Z-score) versus bone turnover markers and clinical parameters

Parameter	DEXA Z-score	
	r_{rho}	p -value
Bone turnover markers, ng/ml		
Serum osteocalcin	–0.488	$< 0.001^{**}$
CTX	–0.843	$< 0.001^{**}$
Clinical parameters		
Duration of JIA, years	–0.384	0.006*
Disease activity (JADAS-27)	–0.864	$< 0.001^{**}$

Note * – significant ($p < 0.05$); ** – highly significant ($p < 0.001$).

Figure
Correlation between JADAS and bone turnover markers



and osteoporosis, which increases the risk of fracture. DEXA of the lumbar spine using the Z-score is the gold standard method for the measurement of BMD in the pediatric age group. Bone turnover markers are tools that detect the dynamics of bone remodeling concerning the bone formation and resorption [7].

This study aimed to assess BMD and bone turnover markers (serum osteocalcin for bone formation and CTX for bone resorption) in JIA patients and their relation to disease activity.

The present study included 50 JIA patients with a mean age of 12.81 ± 3.15 and with mean disease duration of 3.63 ± 2.11 years. The selection of patients was based on the criteria of classification of the ILAR [8].

The results of this study showed that 36% of patients had low BMD (Z-score ≤ -2) and 64% of patients had normal BMD (Z-score > -2) by DEXA scan on the lumbar spine. On the other hand, no patient was given a diagnosis of osteoporosis (BMD Z-score ≤ -2 and a significant fracture history) and an X-ray of the lumbar spine was normal in all patients.

On the other side Zavala et al. [21], showed in an observational cross-sectional study of Spanish JIA patients from 5 to 16 years old that the population prevalence estimation of low BMD was less than 5% and concluded that low BMD prevalence in JIA patients in their population was low. This difference may be due to the different nutritional habits of the Egyptian population, low physical activity, and lack of sun exposure.

In this study there was a highly significant difference between types of JIA and DEXA Z-score, DEXA Z-score is lower in polyarticular RF +ve type with a mean -2.60 ± 0.12 and enthesitis-related type with a mean -2.53 ± 1.07 . The mean Z-score in other types of JIA was -1.60 ± 0.09 in polyarticular RF -ve type, -1.36 ± 0.05 in systemic-onset type, and -1.51 ± 0.09 in oligoarticular type. This means that the polyarticular

RF +ve type has the highest score putting them at high fracture risk.

This comes in agreement with a study by Kuntze et al., in which Z-scores were significantly lower in patients with polyarticular JIA and those with spondyloarthropathy [22].

On the contrary, the BMD Z score in the lumbar spine showed a statistically significant correlation with the systemic subtype of JIA in a study by El Badri et al. [23]. Also, Shin et al., reported that patients with systemic JIA had lower BMD values [4]. Also, a study by Hassan et al., concluded that children with JIA who have oligoarticular and systemic onset of JIA patients were more susceptible to low BMD [24]. These differences in our results may be explained by the small number of patients included in some of the subgroups.

The present study showed that 40% of patients have normal vitamin D levels (> 30 ng/ml), 34% have an insufficient level (21–29 ng/ml) and 26% have deficient vitamin D levels (< 20 ng/ml).

El Badri et al., reported also that a deficiency of 25-OH-vitamin D (< 10 ng/ml) was found in 4 (10%) patients [23]. Although in other studies, vitamin D levels in JIA patients were normal [26, 27]. These differences may be due to deficient assessment of the dietary and environmental effects (sun exposure) on study participants.

In the present study, there was a significant difference between vitamin D level and DEXA Z-score; DEXA Z-score is lower in vitamin D deficient patients with a mean -2.25 ± 1.04 .

Also, in another study by El Badri et al., 75% of the patients with vitamin D deficiency (< 10 ng/ml) had a low BMD [23].

In the present study, there was a significant positive correlation between disease activity (JADAS-27) and serum osteocalcin (p -value < 0.05), and a highly significant positive correlation between disease activity (JADAS-27) and serum CTX (p -value < 0.001).

This comes in concordance with a study done by Janicka-Szczepaniak et al., that reported that the concentrations of CTX were higher in patients with a positive JADAS27 score, in other words, with higher disease activity [28].

Our results showed a highly significant difference between vitamin D levels regarding disease activity (JADAS). This means that disease activity is higher in vitamin D deficiency.

This comes in concordance with Çomak et al., a study in which disease activity was calculated with JADAS-27. There was a significant negative correlation between vitamin D levels and disease activity ($p = 0.01$) [29]. There was a suggestion that vitamin D deficiency may be a possible modifiable risk factor affecting the disease activity in JIA [29].

Similarly, Janicka-Szczepaniak et al., concluded that 25(OH) D deficiencies were associated with higher JIA disease activity [28]. Also, Rudenko et al., reported that there was a relationship between serum 25(OH) D and disease activity in patients with early inflammatory polyarthritis [30]. In agreement with this Mouterde et al., reported that disease activity and disability scores were inversely related to 25(OH) D levels [31].

In the present study, there was a highly significant negative correlation between BMD (DEXA Z-score) and bone turnover markers (p -value < 0.001).

Also, Zavala et al., stated that there was an increase in bone turnover in patients with lower BMD values [21].

On the other hand, Janicka-Szczepaniak et al. reported that there were no associations between markers of bone turnover and DEXA results [28]. Also, Qu et al., stated that there was a positive correlation between BMD and osteoprotegerin levels in JIA patients [32]. These differences from our results may be explained by a high biological and circadian variability of bone turnover markers.

In this study, there was a significant negative correlation between BMD (DEXA Z-score) and duration of JIA, and this is explained by that the more disease duration the more chance for high disease activity with higher inflammatory markers, and long periods of immobility and decreased physical activity.

This is in concordance with a study by Hassan et al., which concluded that patients with a longer duration of JIA at diagnosis had more osteopenia and osteoporosis than those with a short duration of disease [24]. Also, another study by Islam et al., reported that the disease duration had a positive relationship with lower BMD in JIA patients [33].

This study showed a highly significant negative correlation between BMD (DEXA Z-score) and JADAS-27.

This is in concordance with a study by Dey et al., in which BMD had a slight negative correlation with disease activity measures (active joint count, JADA score, ESR, and CRP) [34]. Also, another study by Sumi et al., concluded that there was an association between decreased bone mineralization in JIA and low bone formation that is related to disease severity [35]. BMD was significantly lower in patients with high disease activity [34].

CONCLUSION

JIA patients with higher disease activity are at a higher risk of osteopenia and osteoporosis. DEXA Z-score provides a useful noninvasive technique to assess BMD in JIA patients and will increase our diagnostic accuracy and provide invaluable tools for assessing different therapies. Well-timed and efficient treatment of JIA and proper control of disease activity may help to improve the bone status and reduce the incidence of osteoporosis.

FUNDING

Not specified.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

ORCID

Nofal D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5673-2831>

Fotoh D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5805-0081>

References

1. Ciancia S., van Rijn R.R., Högl W., Appelman-Dijkstra N.M., Boot A.M., Sas T.C., et al. Osteoporosis in children and adolescents: when to suspect and how to diagnose it. *Eur J Pediatr* 2022; 181 (7): 2549–61.
2. Bechtold S., Simon D. Growth abnormalities in children and adolescents with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int* 2014; 34 (11): 1483–8.
3. Hastert S.J., Jamilloux Y., Quartier P., Ohlman S., Osterling Koskinen L., Kullenberg T., et al. Anakinra in children and adults with Still's disease. *Rheumatology (Oxford)* 2019; 58 (Suppl 6): vi9–vi22.
4. Shin J., Kang M.J., Kim K.N. Prevalence of Lower Bone Mineral Density and Its Associated Factors in Korean Children and Adolescents with Juvenile Idiopathic Arthritis. *J Rheum Dis* 2018; 25 (4): 248–54.
5. April K.T., Stinson J., Cavallo S., Proulx L., Wells G.A., Duffy C.M., et al. Yoga and Aerobic Dance for Pain Management in Juvenile Idiopathic Arthritis: Protocol for a Pilot Randomized Controlled Trial. *JMIR Res Protoc* 2020; 9 (7): e12823.
6. Huber A.M., Ward L.M. The impact of underlying disease on fracture risk and bone mineral density in children with rheumatic disorders: A review of current literature. *Semin Arthritis Rheum* 2016; 46 (1): 49–63.
7. Hanafy N.M., Elsehaimy L.A., Alzokm S.M., Abd El-Raheem S.I. Bone mineral density and risk factors of osteoporosis in children. *Egyptian Rheumatologist* 2022; 44 (3): 257–60.
8. Alimanovic D., Pedersen T.K., Matzen L.H., Stoustrup P. Comparing clinical and radiological manifestations of adolescent idiopathic

- condylar resorption and juvenile idiopathic arthritis in the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 2021; 79 (4): 774–85.
9. Epstein O., Perkin G.D., Cookson J., Watt I.S., Rakhit R., Robins A.W., et al. *Clinical Examination E-Book* (4th ed.). Elsevier Health Sciences; 2008.
 10. Ronald McRae. *Clinical Orthopaedic Examination* 2010, 6e Paperback.
 11. Backström M., Tynjälä P., Aalto K., Grönlund M.M., Ylijoki H., Putto-Laurila A., et al. Validating 10-joint juvenile arthritis disease activity score cut-offs for disease activity levels in non-systemic juvenile idiopathic arthritis. *RMD Open* 2019; 5 (1): e000888.
 12. Wasserman H., O'Donnell J.M., Gordon C.M. Use of dual energy X-ray absorptiometry in pediatric patients. *Bone* 2017; 104: 84–90.
 13. Adiotomre E., Summers L., Allison A., Walters S.J., Digby M., Broadley P., et al. Diagnostic accuracy of DXA compared to conventional spine radiographs for the detection of vertebral fractures in children. *Eur Radiol* 2017; 27 (5): 2188–99.
 14. Maricic M. Use of DXA-based technology for detection and assessment of risk of vertebral fracture in rheumatology practice. *Curr Rheumatol Rep* 2014; 16 (8): 436.
 15. Dolan E., Varley I., Ackerman K.E., Pereira R.M.R., Elliott-Sale K.J., Sale C. The bone metabolic response to exercise and nutrition. *Exerc Sport Sci Rev* 2020; 48 (2): 49–58.
 16. Akcan N., Poyrazoğlu Ş., Baş F., Bundak R., Darendeliler F. Klinefelter syndrome in childhood: Variability in clinical and molecular findings. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2018; 10 (2): 100.
 17. Consolaro A., Giancane G., Schiappapietra B., Davi S., Calandra S., Lanni S., et al. Clinical outcome measures in juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol* 2016; 14 (1): 1–8.
 18. Ghanima H.M., AL Abassy M.M., El-Hag-Aly M.A. Blunt Chest Trauma; Differences Between Children and Adult in Menoufia University Emergency Hospital. *Egyptian J Hospital Med* 2021; 84 (1): 2180–3.
 19. Perme M.P., Manevski D. Confidence intervals for the Mann–Whitney test. *Statistical Methods Med Res* 2019; 28 (12): 3755–3768.
 20. Schober P., Boer C., Schwarte L.A. Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. *Anesth Analg* 2018; 126 (5): 1763–8.
 21. Zavala R.G., Cuadros E.N., Pedraz L.M., Rego G.D.C., Salinas C.S., Cardona A.U. Low bone mineral density in juvenile idiopathic arthritis: Prevalence and related factors. *An Pediatr* 2017; 87 (4): 218–25.
 22. Kuntze G., Nettel-Aguirre A., Brooks J., Esau S., Nesbitt C., Mosher D., et al. Vertical drop jump performance in youth with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res* 2021; 73 (7): 955–63.
 23. El Badri D., Rostom S., Bouaddi I., Hassani A., Chkirate B., Amine B., Hajjaj-Hassouni N. Effect of body composition on bone mineral density in Moroccan patients with juvenile idiopathic arthritis. *Pan Afr Med J* 2014; 17: 115.
 24. Hassan A.E.A., Rayan M.M., Abdel-Aziz T.M., Abbas A.S., Shoaier M.Z. Value of Screening for Osteoporosis among Children with Juvenile Idiopathic Arthritis. *Egyptian J Hospital Med* 2020; 81(1): 1303–6.
 25. Piloya T.W., Bakeera-Kitaka S., Kisitu G.P., Idro R., Cusick S.E. Vitamin D status and associated factors among HIV-infected children and adolescents on antiretroviral therapy in Kampala, Uganda. *PloS One* 2021; 16 (6): e0253689.
 26. Sengler C., Zink J., Klotsche J., Niewerth M., Liedmann I., Horneff G., et al. Vitamin D deficiency is associated with higher disease activity and the risk for uveitis in juvenile idiopathic arthritis-data from a German inception cohort. *Arthritis Res Ther* 2018; 20 (1): 1–9.
 27. Finch S.L., Rosenberg A.M., Vatanparast H. Vitamin D and juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol* 2018; 16 (1): 1–7.
 28. Janicka-Szczepaniak M., Orczyk K., Szymbor K., Chlebna-Sokół D., Smolewska E. Is it possible to predict a risk of osteoporosis in patients with juvenile idiopathic arthritis? A study of serum levels of markers of bone turnover. *Acta Biochim Pol* 2018; 65 (2): 297–302.
 29. Çomak E., Doğan Ç.S., Uslu-Gökçeoğlu A., Akbaş H., Özdem S., Koyun M., et al. Association between vitamin D deficiency and disease activity in juvenile idiopathic arthritis. *Turk J Pediatr* 2014; 56 (6): 626–31.
 30. Руденко Е.В., Тябут Т.Д., Буглова А.Е., Бабак Г.А., Морозик П.М., Борисенко Т.Д. Частота встречаемости гиповитаминоза D и ассоциации плазменной концентрации 25(OH)D с показателями активности заболевания у пациентов с ревматоидным артритом. Доклады Национальной академии наук Беларуси 2020; 64 (6): 723–9.
 31. Mouterde G., Gamon E., Rincheval N., Lukas C., Seror R., Daien C., et al. Association between Vitamin D Deficiency and Disease Activity, Disability, and Radiographic Progression in Early Rheumatoid Arthritis: The ESPOIR Cohort. *J Rheumatol* 2020; 47 (11): 1624–8.
 32. Qu H., Sundberg E., Aulin C., Neog M., Palmblad K., Horne A.C., et al. Immunoprofiling of active and inactive systemic juvenile idiopathic arthritis reveals distinct biomarkers: a single-center study. *Pediatr Rheumatol* 2021; 19 (1): 1–3.
 33. Islam M.F., Islam M.I., Talukdar M.K., Rahman S.A. Bone mineral density in children with juvenile idiopathic arthritis: a hospital based study. *Bangladesh J Child Health* 2013; 37 (1): 18–21.
 34. Dey S., Jahan A., Yadav T.P., Bhagwani D.K., Sachdev N. Measurement of bone mineral density by dual energy X-ray absorptiometry in juvenile idiopathic arthritis. *Indian J Pediatr* 2014; 81 (2): 126–32.
 35. Sumi S.K., Rahman S.A., Islam M.I., Islam M.M., Talukder M.K. Assessment of vitamin D, calcium, inorganic phosphate, alkaline phosphatase and parathormone in juvenile idiopathic arthritis patients. *Bangladesh J Child Health* 2019; 43 (3): 145–51.

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 26.01.2023
Принята к печати 22.02.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-90-98

Оценка эффективности и безопасности метода персонифицированной реабилитации второго этапа с использованием современных методов и технологий у детей с первичными иммунодефицитами

Э.К. Мгдсян¹, Ю.А. Родина¹, А.Б. Абросимов^{1,2}, Е.В. Жуковская^{1,2}, А.Ф. Карелин^{1,2},
А.Ю. Щербина¹, Г.А. Новичкова¹

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

²Лечебно-реабилитационный научный центр «Русское поле» ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Московская область, дер. Гришенки

Контактная информация:

Мгдсян Эдмонд Каренович,
врач-ординатор ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: edmondio100@ya.ru

Первичные иммунодефициты (ПИД) представляют собой генетически обусловленные дефекты иммунной системы. Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении ПИД, персонифицированная реабилитационная терапия, направленная на улучшение качества жизни (КЖ) пациентов, не стандартизирована. По результатам исследования эффективности разработанного нами протокола реабилитации второго этапа на базе ЛРНЦ «Русское поле» у 78 пациентов (59 мальчиков и 19 девочек) с различными формами ПИД констатируется достоверное улучшение КЖ по всем видам функционирования. Так, показатель суммарной шкалы КЖ увеличился с 66,13 до 74,89 балла по детской форме и с 65,37 до 70,86 балла по родительской форме. Наибольшее улучшение КЖ достигнуто у детей младше 12 лет, у которых отмечено увеличение суммарной шкалы с 63,22 до 74,95 балла по детской форме, и с 63,24 до 71,34 балла по родительской форме. Таким образом, персонифицированная реабилитационная терапия позволяет улучшить КЖ пациентов с ПИД и может быть применима в различных реабилитационных центрах. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Ключевые слова: реабилитация, дети, первичный иммунодефицит, качество жизни

Мгдсян Э.К. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 90–8.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-90-98

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 26.01.2023
Accepted 22.02.2023

The assessment of the efficacy and safety of the personalized rehabilitation of the second stage using modern methods and technologies in children with primary immunodeficiencies

E.K. Mgdsyan¹, Yu.A. Rodina¹, A.B. Abrosimov^{1,2}, E.V. Zhukovskaya^{1,2}, A.F. Karelin^{1,2}, A.Y. Shcherbina¹,
G.A. Novichkova¹

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

²Russkoe Pole Treatment and Rehabilitation Center of Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow region, Grishenki

Correspondence:

Edmond K. Mgdsyan,
a resident at the Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology, Immunology,
Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: edmondio100@ya.ru

Primary immunodeficiencies (PID) are genetically determined defects of the immune system. Despite significant advances in diagnosis and treatment of this group of disorders, personalized rehabilitation therapy aimed at improving the quality of a patient's life (QOL) is not standardized. Our study of the rehabilitation effectiveness in a group of PID patients ($n = 78$; 59 boys and 19 girls), treated at the Russkoe Pole Rehabilitation Center, demonstrated significant improvement of the QOL in all aspects. The total QOL scale score increased from 66.13 to 74.89 points according to a child form and from 65.37 to 70.86 points according to a parent form. The greatest improvement in the QOL was achieved in children under 12 years of age, with an increase in the total scale score from 63.22 to 74.95 points (child form), and from 63.24 to 71.34 points (parent form). Therefore, personalized rehabilitation therapy can improve the QOL of patients with PID and can be applied in various rehabilitation centers. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation.

Key words: rehabilitation, children, primary immunodeficiency, quality of life

Mgdsyan E.K., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 90–8.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-90-98

Первичные иммунодефициты (ПИД) – это гетерогенная группа генетически опосредованных заболеваний, затрагивающих определенные механизмы иммунитета [1]. ПИД характеризуются высокой частотой инфекционных эпизодов, аутоиммунными, аутовоспалительными и онкологическими проявлениями [2].

С момента первых описанных заболеваний этой группы прошло не менее 70 лет. Сегодня описано почти 500 различных генов, отвечающих за тот или иной дефект иммунной системы. Согласно последней классификации, принятой Международным союзом иммунологических обществ (International Union of Immunologic Societies, IUIS), ПИД разделены на 10 подгрупп [3]:

1. Дефекты клеточного и гуморального звеньев иммунитета.
2. Комбинированные ПИД, ассоциированные с синдромальными проявлениями.
3. Дефекты гуморального звена иммунитета.
4. ПИД с иммунной дисрегуляцией.
5. Дефекты фагоцитоза.
6. Дефекты врожденного иммунитета.
7. Аутовоспалительные заболевания.
8. Дефекты системы комплемента.
9. Синдромы костномозговой недостаточности.
10. Фенокопии ПИД, вызванные соматическими мутациями.

По данным А.А. Мухиной и соавт., частота встречаемости ПИД в Российской Федерации (РФ) значительно различается между регионами [4]. На середину 2019 г. заболеваемость составила в среднем 1,5 на 100 тыс. населения, однако эти данные лишь приблизительно позволяют оценить реальную эпидемиологическую ситуацию в стране: учитывая значительную гиподиагностику ПИД, распространенность этих заболеваний, вероятно, выше. С введением неонатального скрининга на наиболее тяжелые формы ПИД выявляемость таких пациентов определенно увеличится, что предполагает необходимость создания дополнительных условий для оказания медицинской помощи этой растущей когорте больных [5].

Стоит также отметить ряд трудностей в оказании специализированной помощи пациентам с ПИД в РФ на различных ее этапах. Несвоевременная постановка как самого диагноза ПИД, так и его осложнений, сказывается на результатах лечения и приводит к менее благоприятному фармакоэкономическому результату.

Наряду с иммунным дефектом пациенты с ПИД имеют большой спектр неинфекционных проявлений [6]. Например, пациенты с гуморальными дефектами предрасположены к таким осложнениям, как артриты и бронхоэктатическая болезнь легких [7], некоторые ПИД (синдром Луи-Бар и др.) ассоциированы

с неврологической симптоматикой [8], группа общей вариабельной иммунной недостаточности и ПИД с хромосомными aberrациями имеют высокую частоту развития интерстициальной лимфоцитарной болезни легких [9]. Также пациенты с ПИД более подвержены риску развития вторичных опухолей по сравнению со здоровой популяцией [10]. Поздняя постановка самого диагноза ПИД и, как следствие, назначение таргетной терапии осложнений, основанной на молекулярно-генетическом дефекте, приводит к значительной инвалидизации больных с ПИД.

Другой особенностью ведения пациентов с ПИД после постановки диагноза является длительность лечения, что подразумевает длительное или повторное нахождение в стационаре, а также длительный/пожизненный прием определенных лекарственных средств. Несомненно, это существенно влияет на повседневную жизнедеятельность пациентов и качество жизни (КЖ).

Согласно определению Центров по контролю и профилактике заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention), КЖ, связанное со здоровьем (health-related quality of life, HRQOL) – это оценка влияния болезни, инвалидности или расстройства на самочувствие и жизнедеятельность человека [11]. В свою очередь, Всемирная организация здравоохранения еще в 1994 г. определила КЖ как «восприятие человеком своего положения в жизни в контексте культуры и системы ценностей, в которых он живет, а также в связи с его целями, ожиданиями, стандартами и заботами» [12]. HRQOL является важнейшим критерием эффективности оказания медицинской помощи и определяется путем проведения опросов больных. Наряду с HRQOL КЖ может определяться с помощью оценки физического развития, нутритивного, психоэмоционального и социального статусов ребенка и его семьи.

По данным различных исследований, пациенты с ПИД имеют сниженный уровень HRQOL [13, 14]. Так, у них отмечается снижение физического развития по сравнению со здоровым контролем, а также по сравнению с группой пациентов с другим хроническим заболеванием – ювенильным артритом [13, 15]. Тем не менее есть данные, демонстрирующие улучшение показателя HRQOL при проведении дополнительных реабилитационных мероприятий у пациентов с рядом ПИД [16]. Таким образом, для адекватного освещения вопроса проводимые исследования должны включать динамическую оценку КЖ, в том числе и после выполнения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [17]. В случае с синдромальными формами ПИД, такими как синдромы Луи-Бар и Айкарди-Гутьереса, реабилитация неврологических функций является неотъемлемой частью лечения и показывает значительное улучшение [18, 19], при

синдромах Шимке, Кабуки и др. пациенты нуждаются в комплексной физической реабилитации [20, 21].

Для составления персонифицированного плана реабилитации пациентов с ПИД необходима всесторонняя оценка как перенесенных или текущих заболеваний, так и рисков возникновения новых, а также потенциального токсического воздействия длительно получаемой пациентами терапии. Помимо динамической оценки функций дыхательной и сердечно-сосудистой систем путем инструментальных исследований и проб, оценки и коррекции нутритивного статуса многим пациентам необходима коррекция нейрокогнитивных нарушений, что требует оценки ментального здоровья и комплексной нейропсихологической реабилитации [15, 21].

К сожалению, стоит отметить, что разработанных критериев КЖ для пациентов с ПИД детского возраста на данном этапе не существует, это затрудняет универсальную оценку КЖ у таких больных [13].

Учитывая схожесть модели пациента с ПИД и пациента со злокачественными заболеваниями после проведения полихимиотерапии, нами выполнено исследование по оценке эффективности реабилитационного лечения второго этапа пациентов с ПИД с использованием протокола реабилитационных мероприятий для детей со злокачественными заболеваниями [22, 23].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Описание исследования

В период с 01.09.2020 по 31.12.2022 на базе ЛРНЦ «Русское Поле» ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России нами проводилось исследование по оценке эффективности метода реабилитации второго этапа, ранее апробированного у пациентов со злокачественными образованиями [23], у детей с ПИД. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Родители и пациенты подписали информированные согласия на участие в исследовании.

Критериями включения были установленный диагноз ПИД согласно диагностическим рекомендациям ESID (European Society for Immunodeficiencies) [24], подписанное информированное согласие на проведение реабилитационного лечения.

В исследование были включены 78 пациентов (59 мальчиков и 19 девочек) с различными формами ПИД (рисунк 1).

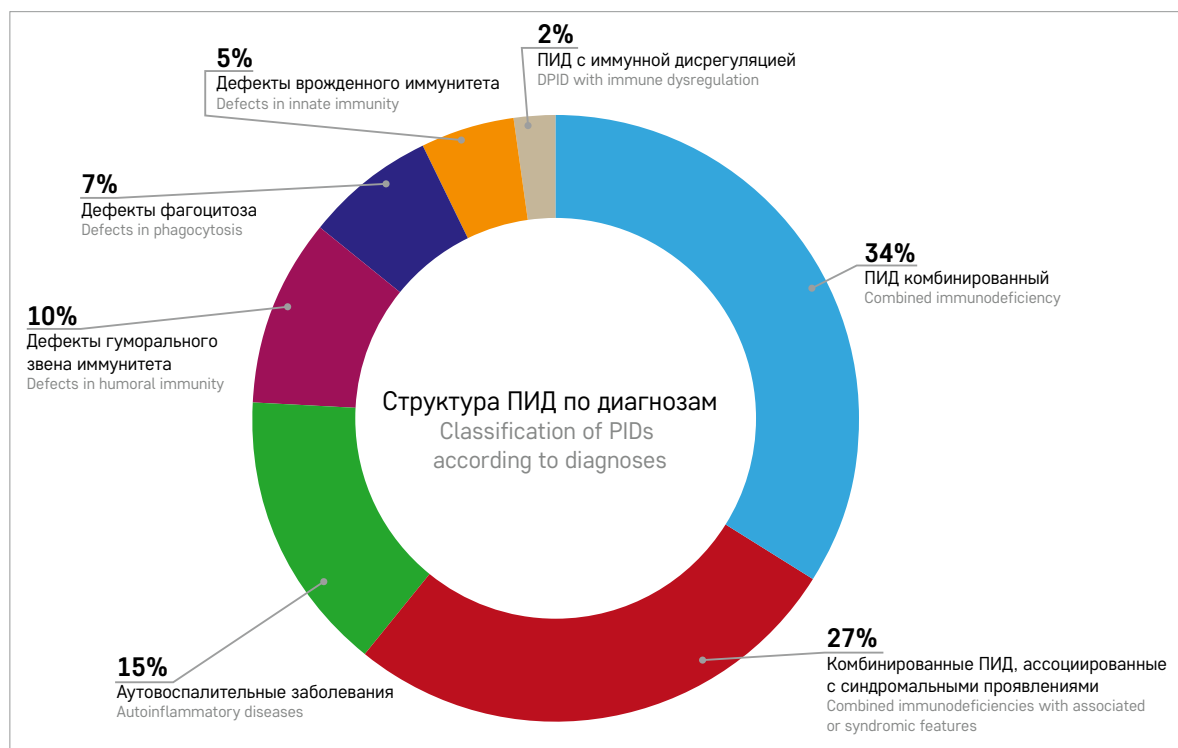
Возраст пациентов на момент проведения реабилитации составил 8,9 года (3–17 лет), возраст постановки диагноза ПИД – 5,7 года (0,2–16 лет). Таким образом, в исследуемой группе отсрочка постановки диагноза составила 6,4 года (0,5–12 лет), отсрочка начала реабилитационного лечения в общей

Рисунок 1

Диагнозы пациентов с ПИД, получавших реабилитационное лечение

Figure 1

The diagnoses of patients with primary immunodeficiencies (PIDs) who received rehabilitation treatment



группе – 11,1 года (0,5–15 лет), в группе пациентов до 12 лет – 6,68 года (0,5–12 лет), в группе больных старше 12 лет – 15,65 года (3–17 лет). Курс реабилитационного лечения составлял 21 день.

Описание метода

Концепция метода реабилитационной помощи в рамках второго этапа реабилитации основана на 2 взаимосвязанных этапах: ретроспективном и проспективном (рисунки 2). Ретроспективный этап включает анализ предполагаемых причинных факторов плохого состояния здоровья и отражает оценку событий (проявления заболевания, проводимая терапия и ее последствия, пребывание в стационарах и т.д.), произошедших с пациентом в прошлом с помощью компьютерной системы SplanK. По совокупности оценки создается референс-система предсказания наиболее вероятных нарушений функций органов и систем. По результатам референса определялся спектр врачей узких специальностей, необходимых для дообследования пациента, диагностики инфекционных и других осложнений с формированием дальнейших рекомендаций для второго этапа реабилитации и реабилитации по месту жительства. Более подробно методика описана ранее [25]. Проспективный этап включает выделение актуальных факторов, связанных со здоровьем и социальным функционированием (СФ) в данный момент, воздействие на эти факторы и отслеживание результатов воздействия в будущем.

Лабораторный блок был представлен тестами по исследованию функции иммунной системы, а также других основных систем, возможно, пострадавших из-за проявлений ПИД.

Стандартное инструментальное обследование для оценки функций различных органов и систем состояло из электрокардиографии, эхокардиографии, ультразвукового исследования (УЗИ) периферических сосудов, спирометрии. Состояние

двигательных периферических нервов и нервно-мышечная проводимость оценивались по данным УЗИ периферических нервов, электромиографии и электронейромиографии.

Для выявления повреждений и формирующихся заболеваний опорно-двигательного аппарата проводятся соматоскопия, соматометрия, гониометрия, УЗИ скелетных мышц, компьютерная оптическая топография спины. Контроль баланса тела в вертикальной стойке осуществлялся с помощью стабиллометрии. Состояние мышечной ткани оценивалось по данным биоимпеданса и калиперометрии. Для оценки переносимости физических нагрузок применялись тест 6-минутной ходьбы с кардиореспираторной пробой и тесты на силовую выносливость основных групп мышц с дополнительными замерами частоты сердечных сокращений, артериального давления и сатурации кислорода через 3 и 5 мин после окончания нагрузки. Двигательные навыки оценивались по тесту Брунинкса–Озерецкого. Соматометрия включала в себя измерение веса, роста сидя и стоя, окружности талии и бедер (с расчетом индекса талии–бедер), окружности плеча с 2 сторон, расчет индекса массы тела.

Силовая выносливость мышц живота определяется по времени удержания туловища в горизонтальном положении, мышц спины – по времени удержания туловища в горизонтальном положении, лицом вниз, руки за головой, силовая выносливость мышц ног – по времени удержания прямой ноги в горизонтальном положении стоя, мышц плечевого пояса – по времени удерживания руки в сторону с утяжелителем.

В качестве методов углубленной диагностики использовались денситометрия, сфигмометрия, плантография, стабиллометрия с функциональными нагрузками.

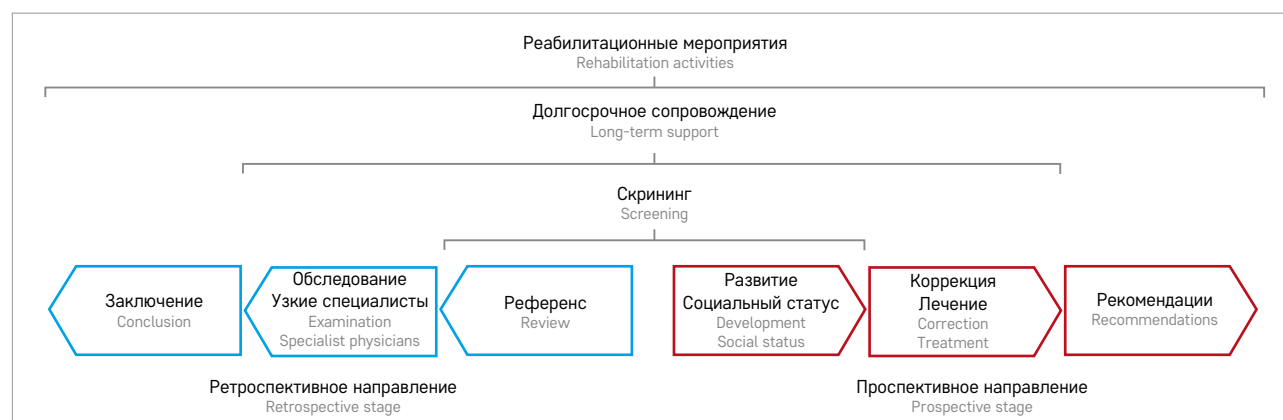
Всем пациентам проводился комплексный скрининг нутритивного статуса, включающий неинва-

Рисунок 2

Схема формирования персонализированной программы реабилитационной помощи пациентам с ПИД

Figure 2

Designing a personalized rehabilitation programme for patients with PIDs: a flowchart



живные и простые в применении инструментальные методы (антропометрию и биоимпедансный анализ состава тела) и оценку состава питания и пищевых привычек с помощью анкеты-опросника. По результатам скрининга определялась необходимость консультации диетолога в целях подробного изучения структуры питания ребенка (путем анализа полученных данных, опроса пациента и его родителей), а также тип, объем и вид нутритивной коррекции. По ходу проведения коррекции выполнялся регулярный нутритивный мониторинг, включающий как повторную комплексную оценку нутритивного статуса, так и динамическое наблюдение диетолога, если это необходимо.

Для оценки нейрокогнитивных функций у детей от 3,5 до 6 лет применялись тест Векслера и тест Кауфмана, у пациентов от 7 до 17 лет использовалось множество когнитивных тестов, включающих в себя субтесты на оценку:

- скорости обработки – тест перешифровки (Coding, WISC-VI);
- мелкой моторики – тест доска с отверстиями (grooved pegboard),
- внимания – тест Последовательность 1 (CCTT-1; Детский цветной тест последовательностей – Children Colored Trail Test), тест предъявляемых последовательностей Коннора (Connors CPT-3);
- кратковременной памяти – тест прямой числовой ряд (Digit Span Forward WISC-VI);
- избирательного зрительного запоминания (Visual Selective remaining TOMAL-2);
- зрительно-пространственного восприятия (копирование фигуры Рея–Остеррица).

Исполнительные функции в 7–17 лет оценивались при помощи тестов:

- рабочей памяти – тест обратный числовой ряд (Digit Span Backward WISC-VI);
- переключаемости – тест Последовательность 2 (CCTT-2);
- флюидного интеллекта – тест направленных вербальных ассоциаций;
- невербального мышления – тест решение матриц (Matrix reasoning WISC-IV).

Состояние функции саккадической системы изучалось при помощи айтрекинга, нейродинамические функции диагностировались при помощи метода слухо-моторной синхронизации.

Этап finalizировался составлением индивидуальной программы реабилитации и чек-листом скрининга выявленных проблем.

Реабилитационные мероприятия

Реабилитационные мероприятия были направлены на улучшение качества функционирования различных систем организма.

Для повышения качества физического функционирования (ФФ) применялись традиционные методы курортной терапии: терренкур, занятия в бассейне, скандинавская ходьба и др.

Лечебная физкультура включала целый спектр методов: рефлекторную кинезотерапию по методике Войта, метод проприоцептивного нейромышечного проторения, методики индивидуальной дыхательной кинезотерапии (контактного дыхания, вибрационной гимнастики, аутогенного дренажа, стимуляции объема движений грудной клетки, рефлекторного дыхания), кинезотерапию по программе «Баланс», метод стрейчинга, ритмику и др.

Лечебная физкультура сочеталась с применением аппаратных методов физической терапии: индуктотермией, под воздействием которой расширяются сосуды, ускоряется кровоток, улучшается коронарное кровообращение; магнитотерапией, активирующей процессы репарации и регенерации, улучшающей микроциркуляцию и периферический кровоток и лимфоток, работу вегетативной нервной системы; электросном по седативной методике; электростимуляцией соответствующих групп мышц и др.

Коррекция нейрокогнитивных функций осуществлялась посредством использования ряда методик, который включает в себя Дайновижн, Нейротрекер, Фитлайт, Пабло. Для оценки эффективности когнитивной реабилитации использовалась компьютерная батарея тестов Cantab, которая оценивает объем зрительно-пространственной рабочей памяти, скорость обработки информации, переключаемость, ингибирование и пространственное планирование. В целях повышения качества школьного функционирования (ШФ) логопеды-дефектологи определяли школьные дефициты, диагностировали уровень речевого развития учащихся начальной школы и давали рекомендации по коррекции выявленных отклонений. В рамках рутинной работы психологов проводилась диагностика отклоняющегося поведения и эмоционального состояния, для чего использовался опросник Т. Ахенбаха и ряд других психодиагностических методик. Для коррекции психологических проблем в семье применялись методы краткосрочной и когнитивно-поведенческой психотерапии.

Оценка качества жизни

Изучение КЖ проводилось с помощью русской версии опросника PedsQL 4.0 Generic Core Scales отдельно для следующих возрастных групп детей/подростков: 2–4, 5–7, 8–12 и 13–18 лет. Использовались детские и родительские формы [26]. Опросник PedsQL 4.0 состоит из 23 вопросов, объединенных в следующие шкалы:

1. ФФ – 8 вопросов (оцениваются подвижность, ходьба, бег, болевой синдром).

2. Эмоциональное функционирование (ЭФ) – 5 вопросов (оцениваются сон, беспокойство, настроение, чувство страха, грусть).

3. СФ – 5 вопросов (оценивается взаимодействие с другими детьми).

4. ШФ – 5 вопросов (оцениваются ролевое функционирование в коллективе, адаптация к учебной нагрузке, частота пропусков занятий в связи с болезнью или необходимостью посетить врача).

После процедуры шкалирования рассчитывается итоговая величина по 100-балльной системе: чем выше балл, тем лучше КЖ ребенка. Помимо ФФ, ЭФ, СФ, ролевого функционирования оцениваются показатель психосоциального здоровья (сумма баллов шкал ЭФ, СФ, ШФ) и суммарный балл по всем шкалам (СШ) [27, 28].

Статистическая обработка

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения Statistica 6.0. Достоверность различий оценивалась по критерию Стьюдента. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На этапе первичной оценки КЖ пациентов с ПИД было ниже соответствующего показателя здоровой детской популяции [29] и составляло в среднем 66,13 и 65,37 балла по детской и родительской формам соответственно.

Анализ динамики показателей КЖ по всем шкалам опросника PedsQL, включая психосоциальное функционирование (ПСФ) и СШ, подтвердил улучшение КЖ после комплекса реабилитационных мер как по оценкам детей, так и по оценкам родителей, выйдя на показатель СШ более 70 баллов: 74,89 балла по детской форме и 70,86 балла по родительской форме (таблица 1).

Наибольший результат достигнут в улучшении СФ, в котором показатели увеличились с 74,75 до 82,63 балла по детской форме и с 72,41 до 77,86 балла по родительской форме ($p < 0,05$).

Также отмечалась выраженная ($p < 0,05$) динамика улучшения качества ФФ, исходя из прироста баллов согласно детской и взрослой формам: с 67,74 до 74,10 балла и с 66,18 до 68,64 балла соответственно. Отмечалось также повышение ПСФ: с 65,21 до 75,73 балла и с 64,77 до 72,57 балла по детской и родительской формам соответственно (таблица 1). Достоверных различий в зависимости от пола выявлено не было ($p = 0,1$) (таблица 2).

Интересно, что в анализе отдельных возрастных групп пациентов достоверный прирост показателей КЖ по всем видам функционирования был показан

для детей младше 12 лет, однако у детей старше 12 лет достоверного прироста получено не было (рисунки 3).

У детей младше 12 лет прирост баллов по СШ составил 11,73 по детской форме и 8,1 по родитель-

Таблица 1
Динамика показателей КЖ до и после курса реабилитационного лечения

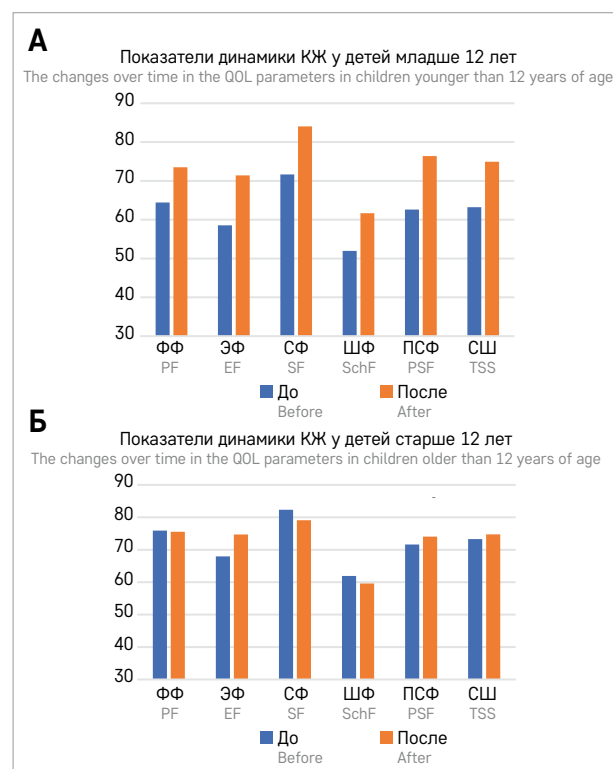
Table 1
The changes over time in the quality of life (QOL) parameters measured before rehabilitation treatment and after it

Вид функционирования Type of functioning	Детская форма Child form		Родительская форма Parent form	
	До Before	После After	До Before	После After
ФФ PF	67,74	74,10	66,18	68,64
ЭФ EF	61,27	72,37	61,70	70,98
СФ SF	74,75	82,63	72,41	77,86
ШФ SchF	55,12	60,95	55,89	62,50
ПСФ PSF	65,21	75,73	64,77	72,57
СШ TSS	66,13	74,89	65,37	70,86

Note. PF – physical functioning; EF – emotional functioning; SF – social functioning; SchF – school functioning; PSF – psychosocial functioning; TSS – total scale score.

Рисунок 3
Динамика показателей КЖ до и после курса реабилитационного лечения в группах пациентов младше (А) и старше (Б) 12 лет (по данным родительской формы)

Figure 3
The changes over time in the QOL parameters measured before rehabilitation treatment and after it in the groups of patients younger (A) and older (B) than 12 years of age (according to a parent form)



ской форме ($p < 0,05$) (таблицы 3, 4), в то время как у детей старше 12 лет – 1,43 балла и 2,03 балла соответственно ($p = 0,2$) (таблицы 5, 6).

Пациенты удовлетворительно переносили данный метод реабилитации, нежелательных эффектов не наблюдалось.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Как показывают результаты данного исследования, инициальные значения КЖ пациентов на момент начала реабилитации снижены, по большинству видов функционирования не превышают 70 баллов. При этом пациенты с ПИД имеют высокий реабилитационный потенциал с улучшением КЖ по большинству параметров до 75 и даже до 80 баллов, что является важным прогностическим фактором на

дальнейшее полноценное функционирование пациента в социальной среде. Так, исследование КЖ у детей с ремиссией острого лимфобластного лейкоза более 2 лет, выполненное в 2004 г. с использованием PedsQL 4.0, определило значение СШ около 70 баллов [27]. КЖ пациентов ЛРНЦ «Русское поле» с опухолями головного мозга по оценкам детей и родителей колебалось от 54 до 68 баллов [28]. В большинстве исследований, посвященных КЖ здоровых детей, определяется значение СШ в пределах 80 баллов [29–31].

Данное исследование косвенно подтверждает важность ранней постановки диагноза ПИД и раннего начала персонифицированной реабилитационной терапии [1]. Так, в группе пациентов младше 12 лет со средней отсрочкой реабилитационного лечения в 6,68 года реабилитационный потенциал был выше

Таблица 2

Результаты динамики показателей КЖ среди мальчиков и девочек

Table 2

The changes over time in the QOL parameters among boys and girls

Вид функционирования Type of functioning	Детская форма Child form				Родительская форма Parent form			
	Мальчики Boys		Девочки Girls		Мальчики Boys		Девочки Girls	
	До Before	После After	До Before	После After	До Before	После After	До Before	После After
ФФ PF	68,33	73,99	66,67	73,96	63,85	66,36	62,26	70,79
ЭФ EF	63,24	72,70	56,90	70,48	61,08	69,41	59,42	72,31
СФ SF	74,46	83,11	75,00	80,95	68,73	73,82	70,96	79,62
ШФ SchF	53,40	58,10	57,00	63,67	40,67	45,93	53,16	55,26
ПСФ PSF	66,01	76,15	63,25	74,17	62,51	69,24	63,27	73,48
СШ TSS	66,82	75,07	64,54	73,88	62,80	67,66	62,87	72,46

Таблица 3

Показатели динамики КЖ у детей младше 12 лет (детская форма; $n = 49$)

Table 3

The changes over time in the QOL parameters in children younger than 12 years of age (child form; $n = 49$)

Показатель КЖ QOL parameter	ФФ PF	ЭФ EF	СФ SF	ШФ SchF	ПСФ PSF	СШ TSS
До, баллы Before, points	64,43	58,57	71,67	51,96	62,62	63,22
После, баллы After, points	73,51	71,43	84,05	61,67	76,41	74,95
Изменение, баллы Changes, points	9,08	12,86	12,38	9,70	13,79	11,73

Таблица 4

Показатели динамики КЖ у детей младше 12 лет (родительская форма; $n = 49$)

Table 4

The changes over time in the QOL parameters in children younger than 12 years of age (parent form; $n = 49$)

Показатель КЖ QOL parameter	ФФ PF	ЭФ EF	СФ SF	ШФ SchF	ПСФ PSF	СШ TSS
До, баллы Before, points	62,91	60,16	71,07	44,59	63,60	63,24
После, баллы After, points	69,11	71,80	77,95	52,21	72,99	71,34
Изменение, баллы Changes, points	6,20	11,64	6,89	7,61	9,39	8,10

Таблица 5

Показатели динамики КЖ у детей старше 12 лет (детская форма; $n = 29$)

Table 5

The changes over time in the QOL parameters in children older than 12 years of age (child form; $n = 29$)

Показатель КЖ QOL parameter	ФФ PF	ЭФ EF	СФ SF	ШФ SchF	ПСФ PSF	СШ TSS
До, баллы Before, points	75,92	67,94	82,35	61,92	71,62	73,30
После, баллы After, points	75,55	74,71	79,12	59,62	74,07	74,73
Изменение, баллы Changes, points	-0,37	6,76	-3,24	-2,31	2,45	1,43

Таблица 6

Показатели динамики КЖ у детей старше 12 лет (родительская форма; $n = 29$)

Table 6

The changes over time in the QOL parameters in children older than 12 years of age (parent form; $n = 29$)

Показатель КЖ QOL parameter	ФФ PF	ЭФ EF	СФ SF	ШФ SchF	ПСФ PSF	СШ TSS
До, баллы Before, points	63,97	62,94	64,12	49,62	60,54	61,85
После, баллы After, points	63,42	67,06	69,12	44,23	64,22	63,88
Изменение, баллы Changes, points	-0,55	4,12	5,00	-5,38	3,68	2,03

и большинство показателей КЖ после окончания курса персонифицированной реабилитации соответствует здоровым нормам. В то же время достоверной разницы в улучшении этих параметров в группе пациентов старше 12 лет, где средняя отсрочка реабилитационного лечения составила 15,65 года, не получено.

Одной из значимых проблем остается невысокое КЖ в школе (ШФ), достоверного улучшения данного показателя после курса реабилитации не отмечено. В настоящее время вопросы инклюзивности и школьного образования для пациентов с ПИД остаются сложной задачей как в силу особенностей течения заболевания, так и в силу недостаточно персонифицированного подхода, психологического сопровождения в общеобразовательных учреждениях в целом.

Важными являются удовлетворительная переносимость и толерантность данного метода реабилитационного лечения среди различных групп ПИД, включая пациентов с ограничением физических возможностей, например, при синдроме Луи–Бар, а также когнитивных функций у большинства пациентов с синдромальными формами ПИД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, эффективность применяемой реабилитационной программы в виде улучшения КЖ настолько высока, что по большинству параметров достигает значения практически здоровых детей.

Персонифицированный метод реабилитации позволяет формировать индивидуальный план лечебно-реабилитационных мероприятий для коррекции осложнений.

Раннее начало персонифицированной реабилитации пациентов с ПИД потенциально фармакоэкономически может быть выгодно для здравоохранения, так как отсроченная диагностика и профилактика осложнений приводит к применению дорогостоящих методов оказания медицинской помощи.

Следовательно, апробированные комплексы реабилитационных мер могут быть рекомендованы и для применения в других клиниках, оказывающих реабилитационную помощь детям/подросткам с ПИД.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Mgdsyan E.K. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9263-6545>

Rodina Yu.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9857-4456>

Abrosimov A.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0676-6694>

Zhukovskaya E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6899-7105>

Karelin A.F. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6383-2822>

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

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

Литература

1. Щербина А.Ю. Первичные иммунодефициты – реалии XXI века. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2016;15 (1): 8–9. DOI: 10.24287/1726-1708-2016-15-8-9
2. Ochs H.D., Hitzig W.H. History of primary immunodeficiency diseases. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2012; 12 (6): 577–87. DOI: 10.1097/ACI.0b013e32835923a6
3. Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Chatila T., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. J Clin Immunol 2020; 40 (1): 24–64. DOI: 10.1007/s10875-019-00737-x
4. Мухина А.А., Кузьменко Н.Б., Родина Ю.А., Хорева А.П., Моисеева А.А. и др. Эпидемиология первичных иммунодефицитов в Российской Федерации. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2020; 99 (2): 16–32.
5. Корсунский И.А., Кудлай Д.А., Продеус А.П., Щербина А.Ю., Румянцев А.Г. Неонатальный скрининг на первичные иммунодефицитные состояния и Т-/В-клеточные лимфопении как основа формирования групп риска детей с врожденными патологиями. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2020; 99 (2): 8–15.
6. Padron G.T., Hernandez-Trujillo V.P. Autoimmunity in Primary Immunodeficiencies (PID). Clin Rev Allergy Immunol. 2022. DOI: 10.1007/s12016-022-08942-0
7. Абрамова И.Н. Оценка эффективности и фармакоэкономический анализ заместительной терапии первичных иммунодефицитов с дефектом гуморального звена у детей. Дис. ... канд. мед. наук. М.; 2020. С. 12–26, 53–55, 81–84.
8. Dehkordy S.F., Aghamohammadi A., Ochs H.D., Rezaei N. Primary immunodeficiency diseases associated with neurologic manifestations. J Clin Immunol 2012; 32 (1): 1–24. DOI: 10.1007/s10875-011-9593-8.

9. Родина Ю.А., Терещенко Г.В., Абрамов Д.С., Щербина А.Ю. Подходы к диагностике и терапии интерстициальной лимфоцитарной болезни легких у пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2018; 97 (5): 130–40. DOI: 10.24110/0031-403X-2018-97-5-130-140
10. Дерипапа Е.В., Швеца О.А., Абрамов Д.С., Мякова Н.В., Щербина А.Ю. Анализ частоты развития лимфом у детей с первичными иммунодефицитными состояниями. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016; 15 (1): 61–5. DOI: 10.24287/1726-1708-2016-15-1-61-65
11. Centers for Disease Control and Prevention. Measuring healthy days: Population assessment of health-related quality of life. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia; 2000.
12. World Health Organization (WHO). Quality of Life Assessment: an annotated bibliography. Geneva: WHO; 1994.
13. Peshko D., Kulbachinskaya E., Korsunskiy I., Kondrikova E., Pulvirenti F., Quinti I., et al. Health-Related Quality of Life in Children and Adults with Primary Immunodeficiencies: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019; 7 (6): 1929–57.e5. DOI: 10.1016/j.jaip.2019.02.013
14. Jiang F., Torgerson T.R., Ayars A.G. Health-related quality of life in patients with primary immunodeficiency disease. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2015; 11: 27. DOI: 10.1186/s13223-015-0092-y
15. Kuburovic N.B., Pasic S., Susic G., Stevanovic D., Kuburovic V., Zdravkovic S., et al. Health-related quality of life, anxiety, and depressive symptoms in children with primary immunodeficiencies. *Patient Preference Adherence* 2014; 8: 323–30.
16. Félix E., Gimenes A.C., Costa-Carvalho B.T. Effects of inspiratory muscle training on lung volumes, respiratory muscle strength, and quality of life in patients with ataxia telangiectasia. *Pediatr Pulmonol* 2014; 49 (3): 238–44. DOI: 10.1002/ppul.22828
17. Shah A.J., Sokolic R., Logan B., Yin Z., Iyengar S., Scalchunes C., et al. Quality of Life of Patients with Wiskott Aldrich Syndrome and X-Linked Thrombocytopenia: a Study of the Primary Immune Deficiency Consortium (PIDTC), Immune Deficiency Foundation, and the Wiskott-Aldrich Foundation. *J Clin Immunol* 2019; 39 (8): 786–94. DOI: 10.1007/s10875-019-00689-2
18. Unes S., Tuncdemir M., Eroglu-Ertugrul N.G., Kerem Gunel M. Effectiveness of Physical Therapy on Ataxia-Telangiectasia: A Case Report. *Pediatr Phys Ther* 2021; 33 (3): E103–7. DOI: 10.1097/PEP.0000000000000813
19. Van Os N.J.H., Haaxma C.A., van der Flier M., Merkus P.J.F.M., van Deuren M., de Groot I.J.M., et al.; A-T Study Group. Ataxia-telangiectasia: recommendations for multidisciplinary treatment. *Dev Med Child Neurol* 2017; 59 (7): 680–9. DOI: 10.1111/dmcn.13424
20. Adam M.P., Hudgins L., Hannibal M., Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M., et al. (eds.). *Kabuki Syndrome*. In: GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2023.
21. Hunter K.B., Lücke T., Spranger J., Smithson S.F., Alpay H., André J.L., et al. Schimke immunosseous dysplasia: defining skeletal features. *Eur J Pediatr* 2010; 169 (7): 801–11. DOI: 10.1007/s00431-009-1115-9
22. Sowers K.L., Gayda-Chelder C.A., Galantino M.L. Self-reported cognitive impairment in individuals with Primary Immunodeficiency Disease. *Brain Behav Immun Health* 2020; 9: 100170. DOI: 10.1016/j.bbih.2020.100170
23. Касаткин В.Н., Чечельницкая С.М., Глебова Е.В., Жуковская Е.В., Вашура А.Ю., Карелин А.Ф. и др. Принципы и методы оказания помощи детям, перенесшим онкологические заболевания, на втором этапе реабилитации. *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация* 2019; (2).
24. European Society for Immunodeficiencies. Registry Working Party Diagnosis criteria; 2018. [Electronic resource]. URL: <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/Diagnosis-criteria> (accessed 25.01.2023).
25. Жуковская Е.В., Абросимов А.Б., Ионова Т.И., Никитина Т.П., Порфирьева Н.М., Карелин А.Ф. Сравнительная оценка качества жизни детей и подростков с тяжелыми заболеваниями системы кроветворения в процессе реабилитации после завершения противоопухолевой терапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Вестник Межнационального центра исследования качества жизни* 2021; (37–38): 42–53.
26. Валиуллина С.А., Винярская И.В., Митраков А.В., Черников В.В. Оценка качества жизни московских школьников. *Тихоокеанский медицинский журнал* 2005; (3): 32–3.
27. Жуковская Е.В., Спичак И.И., Сабирова А.В. Оценка клинико-экономической эффективности результатов лечения детей с острым лимфобластным лейкозом по протоколу BFM ALL-90(m) в детском онкогематологическом центре Челябинской ОДКБ за 1995–1999 гг. *Детская онкология* 2005; (2): 10–6.
28. Цейтлин Г.Я., Кокорева М.Е., Карелин А.Ф., Никитина Т.П., Порфирьева Н.М., Зинковская А.В. и др. Качество жизни детей с опухолями головного мозга и их родителей после медико-социальной реабилитации. *Вестник Межнационального центра исследования качества жизни* 2019; (33–34): 7–18.
29. Малиевский В.А., Малиевский О.А., Баширова Г.И., Байтурина А.Т., Коновалова Г.М., Гатиятуллина Л.Р. Методологические подходы к оценке качества жизни детей. *Российский педиатрический журнал* 2015; 18 (5): 50–6.
30. Сабирова А.В., Волосников Д.К., Киреева Г.Н., Рыкун Л.Ф. Показатели качества жизни здоровых детей, проживающих в селах и городах Челябинской области. *Педиатрический вестник Южного Урала* 2017; (2): 74–81.
31. Никитина Т.П., Ионова Т.И. Актуальные аспекты исследования качества жизни в педиатрии. *Педиатрический вестник Южного Урала* 2022; (1): 4–18. DOI: 10.34710/Chel.2022.94.65.002

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-99-109

Болезнь Розаи–Дорфмана (синусовый гистиоцитоз с массивной лимфоаденопатией). Собственное наблюдение и обзор литературы

А.Е. Руднева, Д.С. Абрамов, А.С. Шарлай, Ю.Н. Ликарь, И.Н. Ворожцов, Н.В. Мякова

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

Болезнь Розаи–Дорфмана (БРД) – редкое заболевание из группы гистиоцитозов, которое встречается в любом возрасте, может поражать практически любые органы и ткани, не имеет патогномоничных симптомов и подтверждается только при гистологическом исследовании пораженной ткани. В работе приводится описание успешного лечения ребенка с БРД с поражением лимфатических узлов, носоглотки, подкожной клетчатки, селезенки и костей, включавшего многоэтапное хирургическое вмешательство и химиотерапию, а также представлен обзор литературы, содержащий рекомендации по обследованию и лечению пациентов с БРД. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: синусовый гистиоцитоз, болезнь Розаи–Дорфмана, лимфоаденопатия, дети, химиотерапия

Руднева А.Е. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 99–109. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-99-109

Rosai–Dorfman disease (sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy): personal observations and literature review

А.Е. Rudneva, D.S. Abramov, A.S. Sharlay, Yu.N. Likar, I.N. Vorozhtsov, N.V. Myakova

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

Rosai–Dorfman disease (RDD) is a rare histiocytic disorder, which occurs at any age, can affect almost any organs and tissues, does not have pathognomonic symptoms and could be confirmed only by histological examination of the affected tissue. The article describes the successful treatment of a child with RDD with lymph nodes, nasopharynx, subcutaneous tissue, spleen and bones involvement, by multistep surgical treatment and chemotherapy. A review of the literature is provided, including recommendations for the examination and treatment of patients with RDD. The patient's parents agreed to use the information, including the child's photo, in scientific research and publications.

Key words: sinus histiocytosis, Rosai–Dorfman disease, lymphadenopathy, children, chemotherapy

Rudneva A.E., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 99–109. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-99-109

Болезнь Розаи–Дорфмана (БРД; Rosai–Dorfman disease), или синусовый гистиоцитоз с массивной лимфоаденопатией, – редкий вариант гистиоцитоза, характеризующийся накоплением активированных гистиоцитов в различных тканях.

БРД встречается во всех возрастных группах – от детей раннего возраста [1] до лиц старше 70 лет [2], средний возраст пациентов – около 20 лет [3]. Частота встречаемости оценивается как 1:200 000, соотношение м:ж составляет 1,4 [4].

Заболевание может протекать в виде поражения одного или нескольких лимфатических узлов, формирования патологических масс в носоглотке, появления мягкотканых образований в коже, различных частях центральной нервной системы (ЦНС), орбите,

паренхиматозных органах, в виде литического поражения костей. Очаги поражения могут быть единичными или сочетаться между собой в любых вариациях [3].

Клинические проявления обычно ограничены местными симптомами в зависимости от пораженного органа. Появление системных симптомов и существенных лабораторных изменений даже при многоочаговом процессе нехарактерно, хотя описаны анемия, нейтрофильный лейкоцитоз, гипергаммаглобулинемия [3] и повышение С-реактивного белка в крови [2].

Наиболее частая локализация патологического процесса при БРД (около 40% случаев) – шейные лимфатические узлы [3]. Наблюдается их резкое

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 14.02.2022
Принята к печати 13.01.2023

Контактная информация:

Руднева Анастасия Евгеньевна, старший научный сотрудник отдела исследования лимфом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: anastasija.rudneva@fccho-moscow.ru

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 14.02.2022

Accepted 13.01.2023

Correspondence:

Anastasiya E. Rudneva, a senior researcher at the Lymphoma Research Department at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: anastasija.rudneva@fccho-moscow.ru

увеличение до 3–5 см в диаметре, они безболезненны, расположены симметрично, имеют шаровидную форму, не спаяны между собой. При поражении носоглотки локальные проявления сходны с таковыми при аденоидите или синусите, но при этом может обращать на себя внимание несоответствие значительного объема поражения и отсутствия признаков воспаления (лихорадка, интоксикация, изменения в анализах крови).

Поражение ЦНС при интракраниальной локализации чаще затрагивает твердую мозговую оболочку, при визуализации (магнитно-резонансная томография) может напоминать менингиому. Поражение может быть в том числе многоочаговым [5]. Описаны также интра- и экстрадуральные поражения спинно-мозгового канала [6].

Поражение кожи может протекать в виде появления плотных округлых инфильтратов в коже и подкожной клетчатке, безболезненных папул и бляшек на поверхности кожи [7, 8].

Поражение костей может проявляться болевым синдромом или появлением припухлости или отека в пораженной области. При визуализации выявляются литические очаги в структуре костей, в некоторых случаях поражение костной ткани протекает бессимптомно и выявляется только при обследовании [9, 10].

Описаны поражения различных органов – почек, легких, грудных желез, печени, селезенки, орбит, яичек, сердца и крупных сосудов, надпочечников, поджелудочной железы и других отделов желудочно-кишечного тракта [2].

Клинические проявления БРД весьма разнообразны, при этом каких-либо патогномоничных признаков у этого заболевания нет, и диагноз подтверждается только гистологически. Тонкоигольные пункционные биопсии лимфатических узлов и других очагов в тканях обычно оказываются неинформативными, так как не позволяют оценить гистоархитектонику очага поражения, а при экстранодальных формах существует вероятность аспирации материала из прилежащих тканей с реактивными изменениями. Характерной гистологической картиной нодального поражения является массивная инфильтрация медуллярных и субкапсулярных синусов лимфатического узла разновеликими, часто гигантскими гистиоцитами с небольшим ядром и наличием в цитоплазме интактных лимфоцитов, эритроцитов и плазматических клеток – данный признак получил название эмperiополеза. При экстранодальном поражении гигантские гистиоциты с признаками эмperiополеза расположены разрозненно среди соединительнотканной стромы. При иммуногистохимическом исследовании крупные гистиоциты сохраняют свой нормальный

иммунофенотип, экспрессируют CD68, Macrophage, CD163, обращает на себя внимание градиентная экспрессия S100, клетки имеют разную интенсивность экспрессии – от совсем слабой до яркой. Отсутствует экспрессия CD1a, Langerin, FXIIIa. Имеется примесь небольшого количества плазматических клеток, связи с IgG4-ассоциированными расстройствами не выявлено. Нодальная и экстранодальные формы морфологически отличаются друг от друга по гистоархитектурному расположению клеток патологического процесса. При классических нодальных формах клетки расположены внутри резко расширенных синусов лимфатических узлов, имеют крупные, вплоть до гигантских, размеры. Экстранодальные формы представляют диагностические сложности из-за малого количества патологических клеток, примеси большого объема воспалительного субстрата из сегментоядерных лейкоцитов, лимфоцитов.

Этиология процесса точно не определена. Показано отсутствие клональности гистиоцитов, характер их пролиферации рассматривается как реактивный, однако триггер процесса не выявлен [3]. В последние годы появляются свидетельства об участии в патогенезе различных гистиоцитарных процессов, активирующих мутации в генах *NRAS*, *KRAS*, *MAP2K1*, и *ARAF*. В случае БРД выявлены мутации в генах *ARAF*, *KRAS*, *NRAS* [11–13], *BRAF* [14], *MAP2K1* [12, 15]. Обнаружение этих мутаций может свидетельствовать в том числе о клональности и неопластическом характере процесса, по крайней мере, в некоторых случаях БРД [2].

Описано сочетание БРД с системными заболеваниями: системной красной волчанкой (СКВ) [16], аутоиммунной гемолитической анемией (АИГА) [17], злокачественными процессами [10, 18, 19] и иммунодефицитными состояниями [20].

Зарегистрированы случаи семейной БРД в рамках синдрома Н (Faisalabad syndrome), аутосомно-рецессивного генетического заболевания, вызванного мутацией в гене *SLC29A3*, при котором встречается поражение лимфатических узлов, кожи и носоглотки. Синдром также характеризуется гиперпигментацией, гипертрихозом, гепатоспленомегалией, потерей слуха, аномалиями сердца, гипогонадизмом, низким ростом, гипогликемией и *hallux valgus* (отклонение большого пальца стопы кнаружи). В семейные варианты БРД также включают вариант, который ассоциирован с аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом (АЛПС; дефицит FAS), вызванным мутациями в гене *TNFRSF6* [4].

Течение заболевания может быть различным, описаны как спонтанные регрессии или отсутствие продолженного роста после тотального удаления (40–50% случаев) [2], так и рефрактерные варианты

с прогрессирующим или рецидивирующим течением и даже летальным исходом [21, 22].

Общепринятого подхода к лечению БРД не разработано. Выбор терапии зависит от агрессивности течения заболевания, локализации и клинической ситуации. При возможности рекомендуется тотальное хирургическое удаление пораженных лимфоузлов. Если радикальное хирургическое удаление неосуществимо (например, при наличии множественных очагов), применяются лучевая терапия, стероиды, иммунодепрессанты, различные режимы низко- и среднетозовой химиотерапии. В последние годы с открытием роли мутаций в генах, ответственных за сигнальные пути (*KRAS*, *MAP2K1*) в патогенезе БРД, проводятся исследования по эффективности ингибитора киназ MEK1/2 при рефрактерном течении заболевания [23].

В патологоанатомическом отделении НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 2014 г. диагностировано 30 случаев БРД различных локализаций. Возраст зарегистрированных пациентов от 1 до 16 лет. Восемь детей после постановки диагноза обращались в Центр им. Дмитрия Рогачева за лечебной или консультативной помощью. Лишь у 1 из этих 8 пациентов (множественное поражение костей) документирована спонтанная регрессия процесса, остальным потребовалась системная терапия в связи с рецидивами или невозможностью полной резекции очагов.

В качестве клинического примера мы приводим случай, когда процесс дебютировал с классического поражения шейных лимфатических узлов и носоглотки, прогрессировал с поражением кожи, подкожной клетчатки, костей, лимфатических узлов других групп и селезенки и был успешно купирован системной химиотерапией и хирургической санацией в несколько этапов. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Девочка, 2012 года рождения, росла и развивалась без особенностей. Онкологических и наследственных заболеваний у родственников нет. В возрасте 3 лет 8 месяцев (август 2016 г.) возникло увеличение лимфатических узлов шеи с обеих сторон. Лихорадки, катаральных явлений не отмечалось. Педиатром назначена антибактериальная терапия, которая не привела к уменьшению размеров лимфоузлов. В региональной клинике 14.09.2016 проведена биопсия подчелюстного лимфатического узла, гистологическое заключение в 3 патологических лабораториях, включая патологоанатомическое отделение НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, – синусовый гистиоцитоз (БРД).

Впервые обратилась в Центр им. Дмитрия Рогачева в октябре 2016 г. с жалобами на затрудненное носовое дыхание, увеличенные шейные лимфатические узлы. При осмотре: подчелюстные лимфатические узлы с обеих сторон до 5 см в диаметре, деформирующие контуры шеи, овоидной формы, безболезненные, эластичные. Нижне-шейные, подмышечные, паховые лимфатические узлы до 1 см в диаметре. Носовое дыхание отсутствует, переносица расширена, отечна. В остальном – без особенностей.

Компьютерная томография (КТ) головы и шеи с контрастом (*рисунок 1*) выявила значительное неравномерное билатеральное увеличение размеров поднижнечелюстных, околоушных лимфоузлов и узлов заднего треугольника, максимальным размером 3,1 × 2,3 см, снижение пневматизации обеих верхнечелюстных пазух. Соустья с обеих сторон обтурированы. Ячейки решетчатой кости субтотально заполнены мягкотканым содержимым. Клиновидный синус пневматизирован на треть за счет утолщения слизистой и содержимого. Носовые ходы проходимы на небольшом протяжении в области среднего и нижнего носового хода справа. В дистальных отделах носоглотки отмечается полная обтурация просвета за счет мягких тканей, вероятно, обусловленного увеличением глоточной миндалины.

В хирургическом отделении НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева 03.11.2016 были выполнены удаление подчелюстных лимфатических узлов с обеих сторон, аденотомия, двусторонняя полисинусотомия с удалением патологического субстрата. Гистологическое исследование материала – БРД (*рисунок 2*).

Через 6 нед после хирургической санации, в январе 2017 г., вновь возникли жалобы на увеличение подчелюстных лимфатических узлов, больше справа, затруднение носового дыхания, храп по ночам. На КТ головы и шеи от 01.02.2017 с обеих сторон определяются конгломераты увеличенных околоушных лимфатических узлов общими максимальными размерами справа 3 × 3 × 5 см, слева до 3,5 × 4,5 × 5 см, отдельные поднижнечелюстные лимфатические узлы до 2,5 × 2 × 3 см. Гипертрофия всех лимфоидных структур кольца Пирогова–Вальдейера. Правая верхнечелюстная пазуха тотально заполнена патологическим содержимым, левая верхнечелюстная пазуха, основная пазуха и ячейки решетчатого лабиринта – субтотально.

При осмотре 06.02.2017 обнаружено также увеличение пахового лимфатического узла справа. К 14.02.2017 отмечено появление множественных безболезненных участков инфильтрации диаметром до 1 см в коже и подкожной клетчатке туловища и конечностей.

Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ)/КТ всего тела с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой (^{18}F -ФДГ) (рисунки 3) проведена 15.02.2017, были выявлены множественные очаги накопления радиофармпрепарата (РФП): в лимфатических узлах шеи, средостения, брюшной полости, в паховом лимфоузле справа, в лимфоидной ткани носоглотки, ткани,

инфильтрирующей пазухи, костях, подкожной клетчатке.

В феврале–марте 2017 г. в 2 этапа были проведены хирургические вмешательства: аденотомия, удаление подчелюстных лимфатических узлов справа и двусторонняя эндоскопическая полисинусотомия. Гистологическое заключение по удаленным тканям прежние – БРД.

Рисунок 1

КТ головы и шеи с контрастированием от 27.10.2017. Выявлены значительное увеличение лимфатических узлов шеи с обеих сторон (А) и патологическое содержимое носоглотки (Б)

Figure 1

CT of the head and neck with contrast enhancement, 27.10.2017. Significant enlargement of lymph nodes on both sides of the neck (A) and abnormal masses in the nasopharynx (B)

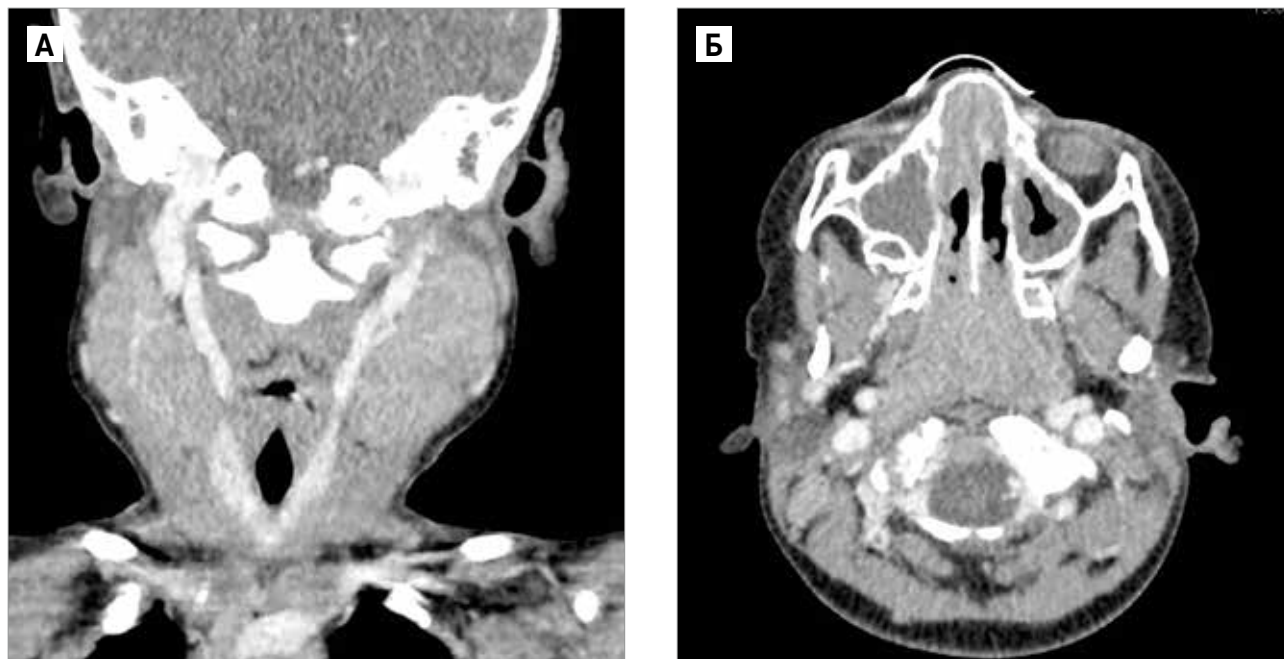


Рисунок 2

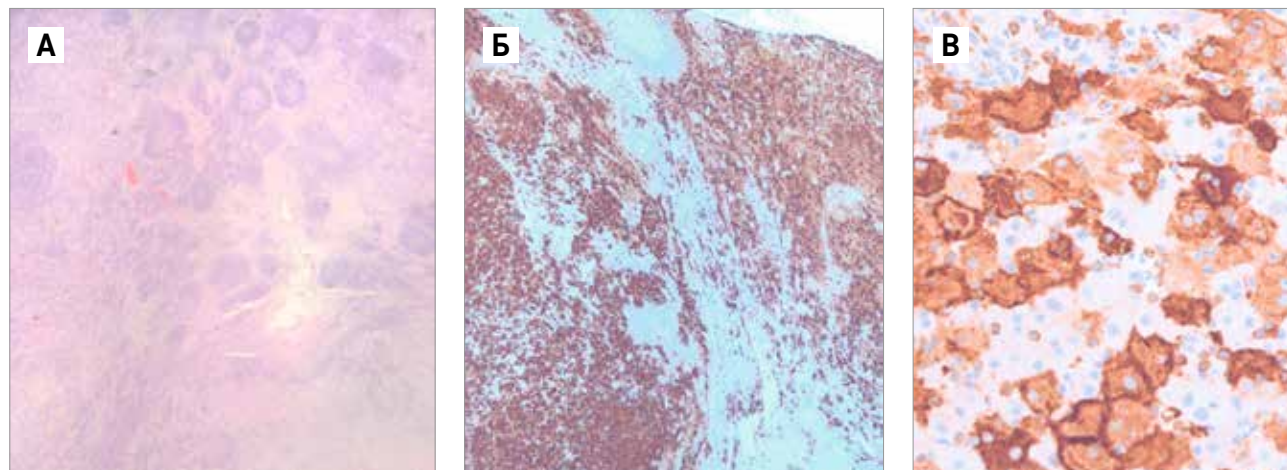
Микроскопическая картина биоптатов лимфатических узлов

А – микроскопически структура лимфатического узла представляет собой резидуальные лимфоидные фолликулы с расширенными парафолликулярными зонами за счет выраженных синусов, заполненных крупными гистиоцитами и эпителиоидного вида клетками (окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$); Б – экспрессия S100-антигена разной степени интенсивности на гистиоцитарных элементах как основного субстрата патологического процесса (иммуногистохимическое исследование, $\times 100$); В – экспрессия CD163 декорирует гигантские одноядерные эпителиоидные клетки и гистиоциты, в цитоплазме которых отчетливо различимы ядра интактных лимфоцитов (иммуногистохимическое исследование, $\times 400$)

Figure 2

Microscopic appearance of the lymph node biopsy specimens

А – microscopically, the structure of the lymph node is residual lymphoid follicles with expanded parafollicular areas due to pronounced sinuses filled with large histiocytes and epithelioid cells (H&E staining, $\times 100$); Б – expression of the S100 antigen of varying intensity on histiocytic elements as the main substrate of the pathological process (IHC, $\times 100$); В – expression of CD163 decorates giant mononuclear epithelioid cells and histiocytes with clearly distinguishable intact lymphocytes within the cytoplasm (IHC, $\times 400$)



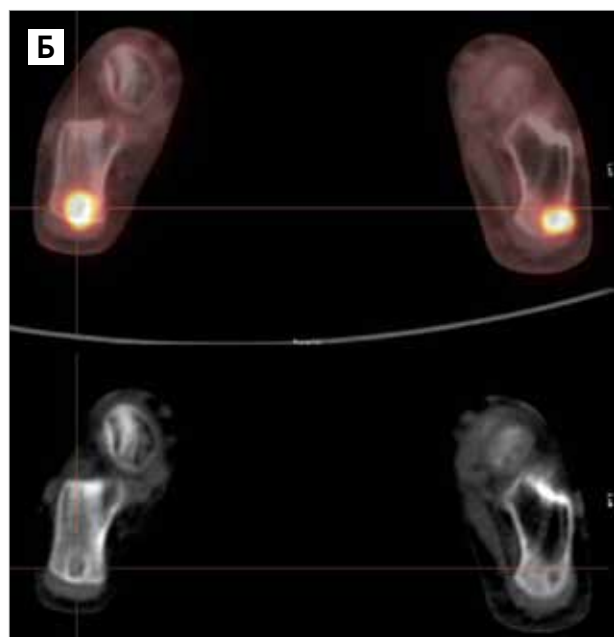
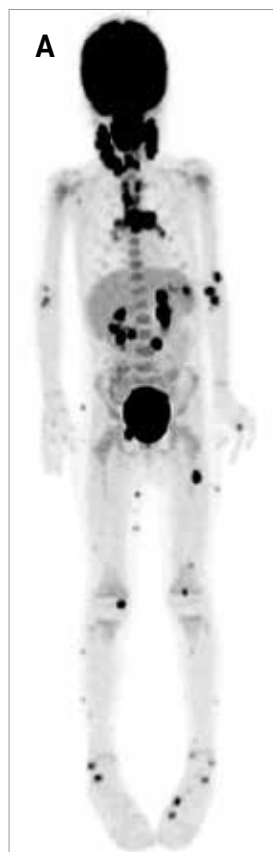
Учитывая многоочаговый характер процесса (лимфатические узлы, пазухи носа, кости, мягкие ткани, селезенка) и невозможность радикального хирургического лечения, было принято решение о проведении системной терапии. В апреле–мае 2017 г. было проведено 2 курса химиотерапии СОР: циклофосфан 750 мг/м² и винкристин 1,5 мг/м² в день 1, преднизолон 40 мг/м² в дни 1–5. После первого курса очаги в подкожной клетчатке стали менее плотными, но полного их регресса не произошло. Увеличение пахового лимфатического узла сохранялось. После

Рисунок 3
ПЭТ/КТ с ¹⁸F-ФДГ от 15.02.2017

А – проекция максимальной интенсивности; Б – КТ- и ПЭТ/КТ-изображения области пяточных костей. Видны множественные очаги повышенного метаболизма в увеличенных лимфатических узлах, в лимфоидной ткани носоглотки, селезенке, костях, подкожной клетчатке (А). На КТ в режиме костного окна хорошо различимы литические очаги в пяточных костях, соответствующие очагам повышенного метаболизма по данным ПЭТ (Б)

Figure 3
¹⁸F-FDG PET/CT from 15.02.2017

A – a maximum intensity projection; B – CT and PET/CT images of the calcaneus. Multiple foci of increased metabolism are visible in the enlarged lymph nodes, the lymphoid tissue of the nasopharynx, the spleen, bones and subcutaneous tissue (A). On CT in the bone window mode, lytic foci in the calcaneus are clearly visible, corresponding to the foci of increased metabolism according to PET (B)



второго блока отмечено появление новых подкожных очагов.

В июне 2017 г. проведены эксцизионная биопсия шейных лимфоузлов справа и пахового лимфоузла справа, удаление экстранодального (кожного) очага на латеральной поверхности правого плеча. Гистологическое заключение прежнее – БРД (рисунок 4).

Таким образом, было констатировано отсутствие ответа на терапию СОР. Проведено 3 курса кладрибина в дозе 6 мг/м² в дни 1–3 с интервалом 21 день.

По данным ПЭТ/КТ от 21.09.2017 после 3 курсов (рисунок 5) – выраженная положительная динамика в виде уменьшения количества очагов и интенсивности накопления РФП в подкожной клетчатке, исчезновение очага в селезенке (SUV не более 2,9 в лимфатических узлах, 1,5 в костных очагах, 1,9 в подкожных образованиях).

Терапия кладрибином продолжена. После 6 курсов по данным ПЭТ/КТ (декабрь 2017 г.) количество очагов и интенсивность накопления РФП без существенной динамики.

Проведено генетическое исследование ранее полученных биоптатов (полимеразная цепная реакция, прямое секвенирование по Сэнгеру): мутаций *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *MAP2K1* в качестве точек приложения для таргетной терапии в субстрате не выявлено.

С декабря 2017 г. была начата терапия 6-меркаптопурином (6-МП) в стартовой дозе 50 мг/м² ежедневно + метотрексат 30 мг/м² 1 раз в неделю с коррекцией доз по уровню лейкоцитов (поддерживался в пределах 2,5–3,5 тыс/мкл). Перерывов в терапии не отмечалось.

На контрольной ПЭТ в июне 2018 г. – увеличение метаболической активности в лимфатических узлах и мягких тканях носоглотки, максимально до 5,1 мм, сохранение очагов в коже и подкожной клетчатке, SUV 1,84, размером до 7 мм. В костях – участки разрежения костной ткани с ободком склероза, максимально до 10 мм, без метаболической активности. В лимфоузлах шеи SUV до 3,9. В июле 2018 г. проведено удаление образования носоглотки, подподбородочного лимфатического узла. Гистологически – БРД.

Продолжена прежняя терапия. Клинически отмечалась постепенная регрессия очагов. По данным ПЭТ/КТ от июня 2019 г. впервые зарегистрирован полный метаболический ответ: очагов патологического накопления РФП в костях, мягких тканях, лимфатических узлах не выявлено.

Терапия 6-МП и метотрексатом прекращена с ноября 2019, когда длительность ее составила 24 мес. Проводятся регулярное наблюдение, контроль ПЭТ/КТ. В декабре 2021 г., через 24 мес после прекращения поддерживающей терапии, признаков реактивации процесса нет.

Рисунок 4

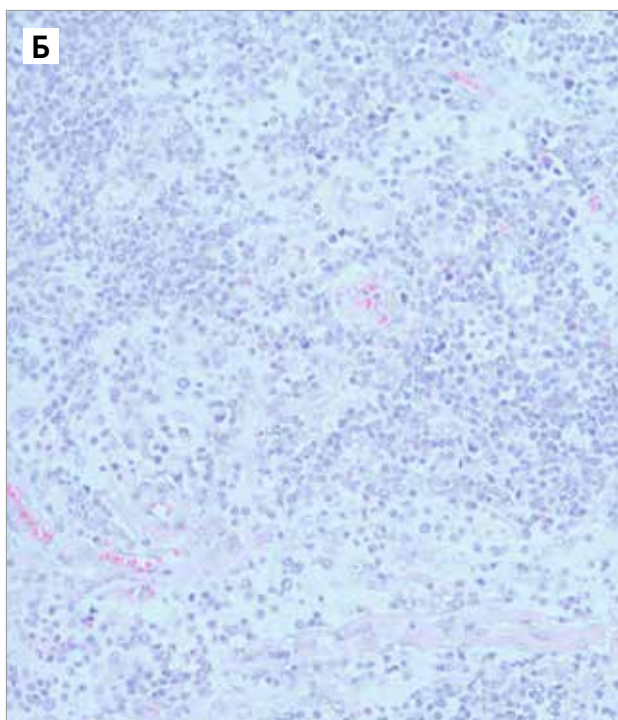
Микроскопическая картина патологических изменений в очаге поражения кожи

А – в дерме определяются плохо отграниченный очаг поражения (окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$); Б – патологический очаг представлен плотными скоплениями гистиоцитов и крупных эпителиоидных клеток с обильной цитоплазмой и признаками эмпириоплезии (окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$)

Figure 4

Microscopic appearance of the skin lesion

А – microscopically in the dermis, a poorly demarcated lesion is identified (H&E staining, $\times 100$); Б – the pathological focus is represented by dense accumulations of histiocytes and large epithelioid cells with abundant cytoplasm and signs of emperipolesis (H&E staining, $\times 400$)



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

БРД впервые описана патологом Pierre Paul Louis Lucien Destombes в 1965 г., затем в 1969 г. – патологами Juan Rosai и Ronald Dorfman как синусный гистиоцитоз с массивной лимфоаденопатией (название БРД впервые было употреблено в 1973 г. и в дальнейшем закрепилось как синоним, в последнее время иногда встречается название Rosai–Dorfman–Destombes disease). В 1984 г. в регистре, который

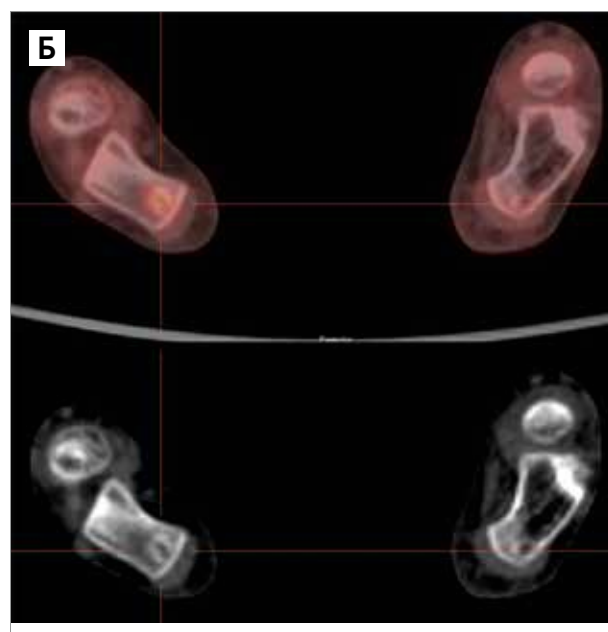
Рисунок 5

ПЭТ/КТ с ^{18}F -ФДГ от 21.09.2017

А – проекция максимальной интенсивности; Б – КТ- и ПЭТ/КТ-изображения области пяточных костей. Количество очагов повышенного метаболизма и интенсивность накопления РФП снизились по сравнению с февралем 2017 г.

Figure 5

^{18}F -FDG PET/CT, 21.09.2017
А – a maximum intensity projection; Б – CT and PET/CT images of the calcaneus. The number of the hypermetabolic foci and isotope accumulation intensity decreased in comparison with February 2017



вели авторы, было 215 случаев [21], в 1990 г. – 423, включая экстранодальные поражения [24]. С 1990 г. упоминаний о регистре нет, но постепенно накапливаются описания случаев или серий случаев заболевания в литературе.

К настоящему моменту база PubMed при формулировке запроса “Rosai–Dorfman” выдает около 1400 статей, вышедших начиная с 1976 г., из них половина опубликованы за последние 10 лет. Ежегодно количество публикаций увеличивается на несколько статей. В 2020 г. зарегистрировано их максимальное количество – 109. Публикации можно встретить в журналах по хирургии, эндокринологии, кожным заболеваниям, рентгенологии и др.

В 2016 г. Гистиоцитарным обществом (Histiocyte Society) предложена новая классификация гистиоцитарных заболеваний [25]. БРД в этой классификации относится к группе R гистиоцитозов, изолированная кожная форма – к группе C.

Классификация собственно БРД (рисунк 6) носит описательный характер и не является основой для определения прогноза или выбора терапии.

В 2018 г. по результатам 32-й ежегодной встречи Гистиоцитарного общества, состоявшейся в октябре 2016 г., в журнале Blood были опубликованы рекомендации по диагностике и терапии БРД [3]. В работе подчеркивается, что крупные проспективные исследования по БРД отсутствуют.

К настоящему моменту на портале Clinical trials зарегистрировано 3 проспективных исследования, касающихся БРД: регистрационное (International Rare Histiocytic Disorders Registry, IRHDR) [26], исследо-

вание эффективности кобиметиниба (высокоселективный аллостерический ингибитор киназ MEK1/2) при рефрактерном течении различных вариантов гистиоцитоза (Cobimetinib in Refractory Langerhans Cell Histiocytosis (LCH), and Other Histiocytic Disorders) [23] и изучение памяти, мышления и визуализации головного мозга у взрослых пациентов с гистиоцитозами (A Study of Memory, Thinking, and Brain Imaging in Adults With Histiocytosis) [27]. Окончание регистрационного исследования планируется в 2024 г.

На основании анализа публикаций можно составить обобщенный «портрет» заболевания, но привычной для гематолога стратификации на группы риска, позволяющей обоснованно выбрать терапевтический подход, пока не существует. В рекомендациях 2018 г. специально указано, что степень достоверности не может быть приведена из-за немногочисленности и разрозненности публикаций. Нет общепринятого стадирования (выделяется только изолированная кожная форма, отнесенная к другой группе гистиоцитозов, нежели остальные формы), не выявлены факторы риска прогрессии или рефрактерного течения. Большинство обобщающих статей написаны на ретроспективных материалах и анализе накопленных в разных клиниках случаев. Ни национальных, ни международных групп по проспективному формированию протоколов терапии БРД не сформировалось.

Для врача практически любой специальности гистологический диагноз БРД может оказаться неожиданным, так как заболевание встречается

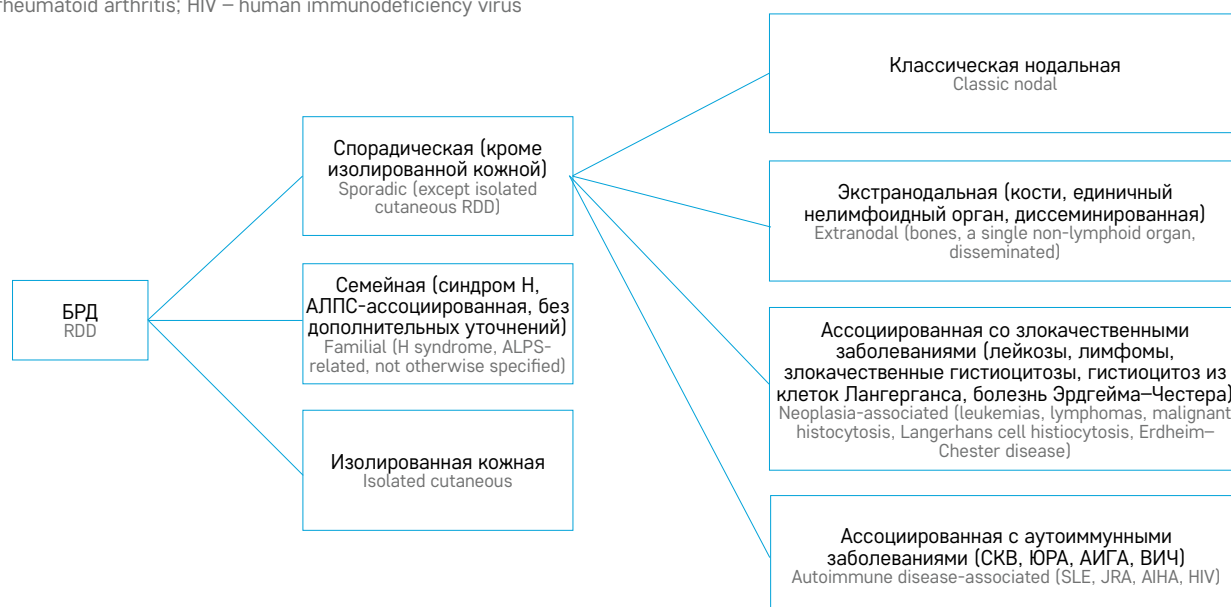
Рисунок 6

Схематическая классификация БРД, предложенная Histiocyte Society [25]
ЮРА – ювенильный ревматоидный артрит; ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

Figure 6

A schematic classification of Rosai–Dorfman disease (RDD) proposed by the Histiocyte Society [25]

AIHA – autoimmune hemolytic anemia; ALPS – autoimmune lymphoproliferative syndrome; SLE – systemic lupus erythematosus; JRA – juvenile rheumatoid arthritis; HIV – human immunodeficiency virus



достаточно редко, не имеет патогномичных признаков, необязательно сопровождается системными симптомами и крайне многообразно в своих проявлениях. К практикующему гематологу чаще всего обратится или пациент с увеличенными шейными лимфатическими узлами, когда в первую очередь будет заподозрен лимфопролиферативный процесс, или с уже установленным гистологическим диагнозом при поражении нелимфоидных органов.

Согласно рекомендациям 2018 г., обследование пациента с впервые выявленной БРД должно включать в себя оценку распространенности процесса и исключение состояний, с которыми может быть ассоциировано заболевание, в первую очередь аутоиммунных и злокачественных процессов [3].

При сборе анамнеза необходимо обратить внимание на наличие системных симптомов (лихорадка, ночная потливость, потеря веса, слабость). Необходимо уточнить семейный анамнез: родственные отношения между родителями, аутоиммунные заболевания у родителей и сиблингов, наличие родственников с иммунодефицитными состояниями (инфекционные заболевания, смерть в раннем возрасте) или злокачественными заболеваниями. Помимо рутинных процедур педиатрического/терапевтического осмотра необходимо оценить состояние всей поверхности кожи, всех групп пери-

ферических лимфоузлов, также обратить внимание на признаки, которые могут указывать на семейную форму БРД.

Для оценки распространенности процесса наиболее рациональным представляется проведение ПЭТ/КТ с ^{18}F -ФДГ в режиме «от макушки до стоп», поскольку это исследование позволяет одномоментно оценить наличие очагов поражения во всех органах и тканях [28]. При обнаружении патологической метаболической активности может понадобиться прицельное исследование очагов, например магнитно-резонансная томография костей.

Рекомендации по лабораторным исследованиям представлены в таблице 1.

Как сказано выше, единого терапевтического подхода при БРД не разработано. Большинство исследователей едины в том, что в 40–50% случаев локального течения процесса заболевание регрессирует самостоятельно или не рецидивирует после хирургического удаления [2], однако к настоящему моменту невозможно выделить какие-либо прогностические факторы, которые могли бы указывать на вероятность спонтанного разрешения или прогрессии, а также допустимые сроки наблюдения до начала лекарственной терапии.

В таблице 2 представлены предложенные консенсусом рекомендации по терапии БРД в зависимости

Таблица 1

Лабораторные исследования при первично выявленной БРД (по Consensus recommendations for the diagnosis and clinical management of Rosai–Dorfman–Destombes disease [3])

Table 1

Recommendations on laboratory testing in patients diagnosed with primary RDD (according to the Consensus recommendations for the diagnosis and clinical management of Rosai–Dorfman–Destombes disease [3])

Исследование Test	Примечания Notes
Общий анализ крови с дифференциальным подсчетом лейкоцитов, скорость оседания эритроцитов Complete blood count with differential, erythrocyte sedimentation rate	
Иммуноглобулины сыворотки Serum immunoglobulins	
Панель АЛПС, АНФ, РФ, HLA-B27 ALPS panel, ANA, RF, HLA-B27	Если есть основания предполагать аутоиммунное заболевание If autoimmune disease is suspected
Биохимия крови: функция печени, почек, мочевая кислота, лактатдегидрогеназа Complete metabolic panel, coagulation parameters, uric acid, lactate dehydrogenase	
Коагулограмма Coagulogram	
Проба Кумбса, гаптоглобин, ретикулоциты Coombs test, haptoglobin, reticulocyte count	При наличии анемии Patients with anemia
Секвенирование биоптата, поиск мутаций в сигнальных путях RAF–RAS–MEK–ERK (KRAS, MAP2K1) Next-generation sequencing of lesional tissue for mutations in the RAF–RAS–MEK–ERK pathway (KRAS, MAP2K1)	Поиск мишени для таргетной терапии в тяжелых и рефрактерных случаях Targeted capturing in severe or refractory cases
Костномозговая пункция Bone marrow aspiration/biopsy	При наличии цитопении или нарушениях в формуле крови In case of cytopenia or abnormal peripheral blood smear
Люмбальная пункция Lumbar puncture	Для очагов в головном мозге, недоступных для биопсии; на БРД указывает плеоцитоз с видимым эмпериполезом For brain lesions inaccessible for biopsy; CSF pleocytosis with emperipolesis visible upon cytologic examination is indicative of RDD
Исследование биоптата на PDGFR α / β и c-Kit Check lesional tissue for PDGFR α / β and c-Kit	
Исследование герминальных мутаций в SLC29A3 Germline mutations in SLC29A3	Если предполагается семейная форма If familial RDD is suspected

Примечание. АНФ – антиядерный фактор; РФ – ревматоидный фактор.
Notes. ANF – antinuclear factor; RF – rheumatoid factor.

Таблица 2

Рекомендации по терапии БРД (по Consensus recommendations for the diagnosis and clinical management of Rosai–Dorfman–Destombes disease [3])

Table 2

RDD treatment recommendations (according to the Consensus recommendations for the diagnosis and clinical management of Rosai–Dorfman–Destombes disease [3])

Вариант терапии Treatment	Режим, дозы Dose, schedule	Показания Indications	Комментарии Comments
1	2	3	4
Наблюдение Observation		Неосложненное увеличение лимфатических узлов. Бессимптомная кожная БРД. Полностью удаленный единственный очаг Uncomplicated adenopathy. Asymptomatic cutaneous RDD. Postoperatively in case of resected unifocal disease	Возможно при наличии минимального остатка после хирургической резекции Consider for lesions with minimal residual disease after surgery
Кортикостероиды Corticosteroids	Преднизолон 40–70 мг или 1 мг/кг/сут с постепенным снижением дозы. Дексаметазон 8–20 мг/сут с постепенным снижением дозы Prednisone 40–70 mg or 1 mg/kg per d followed by tapering. Dexamethasone 8–20 mg per d followed by tapering	Поражение лимфатического узла или кожи, сопровождающееся какими-либо симптомами. Нерезецируемое или многоочаговое экстранодальное поражение Symptomatic nodal or cutaneous disease. Nonresectable or multifocal extranodal disease requiring systemic treatment	Продолжительность ответа на лечение неизвестна. Оптимальная продолжительность терапии неизвестна, возможны ранние рецидивы. После терапии стероидами рассмотреть возможность применения других препаратов Responses are unpredictable in duration. The optimal duration of treatment is unknown, early relapses are registered. After successful steroid treatment: consider second-line agents to maintain response
Резекция Surgical resection		Единичный экстранодальный очаг. Интракраниальное, интраспинальное поражение, процесс в пазухах или в дыхательных путях Unifocal extranodal disease. Cranial, spinal, sinus, or airway disease	Возможны местные рецидивы, для которых потребуются системная терапия Local recurrences can occur, in which case systemic treatment should be considered
Сиrolimus Sirolimus	2,5 мг/м ² /сут на 18 мес с постепенным снижением за 6 мес 2.5 mg/m ² per d for 18 mo, then tapering over 6 mo		Целесообразно при БРД, ассоциированной с АЛПС Reasonable first choice in ALPS-related RDD
Лучевая терапия Radiotherapy	30–50 Гр 30–50 Gy	Рефрактерный процесс, сопровождающийся какими-либо симптомами, образования, недоступные для резекции, рецидивировавшие после резекции, или при противопоказаниях к системной терапии Refractory or symptomatic disease not amenable to resection, recurrent disease after resection, or contraindications to systemic therapy	Режим фракционирования не разработан. Может рассматриваться как адъювантная терапия после удаления интракраниальных или интраспинальных процессов с остаточным немассивным образованием No established fractionation schedule. Can also be considered as adjuvant treatment after the resection of cranial or spinal lesions with residual but not bulky disease
Химиотерапия Chemotherapy			
Кладрибин Cladribine	5 мг/м ² /сут в течение 5 дней с интервалом в 28 дней, всего 6 циклов 5 mg/m ² per d for 5 d, every 28 d for up to 6 cycles	Тяжелое диссеминированное или рефрактерное течение. Поражение ЦНС Severe, disseminated, or refractory disease. CNS involvement	Может вызывать миелосупрессию с соответствующим риском инфекций Can cause myelosuppression with associated infections
Метотрексат Methotrexate	20 мг/м ² 1 раз в неделю 20 mg/m ² per wk	Многоочаговое, кожное поражение или поражение ЦНС Multifocal, skin, or CNS disease	Целесообразно в качестве поддерживающей терапии после резекции. Оптимальная продолжительность неизвестна Reasonable as maintenance therapy after surgery or steroids. The optimal duration is unknown
6-МП + метотрексат 6-mercaptopurine + methotrexate	50 мг/м ² /сут + 20 мг/м ² 1 раз в неделю 50 mg/m ² per d + 20 mg/m ² per wk		
Алкалоиды барвинка Vinca alkaloids	Стандартные дозировки, винбластин обычно в сочетании с преднизолоном Standard doses, vinblastine usually combined with prednisone		Продолжительность терапии и степень ответа не установлены Variable responses, the optimal duration is unknown
Иммунотерапия Immunomodulatory			
Талидомид Thalidomide	50–300 мг в день 50–300 mg per d	Рефрактерные кожные поражения Refractory cutaneous form	Оптимальная длительность и степень ответа не установлены. Возможны кожные высыпания, нейропатия The optimal dose and duration are unknown Variable responses Toxicities include skin rash and neuropathy
Леналидомид Lenalidomide	Неизвестно Unknown	Рефрактерное течение Refractory disease	Возможна миелосупрессия. Кожные высыпания и нейропатия меньше, чем при применении талидомида Myelosuppressive but neuropathy and skin rash are less severe than in patients treated with thalidomide

1	2	3	4
Ритуксимаб Rituximab	500 мг/м ² с интервалом 1–2 нед, 2–6 циклов, возможно, в сочетании с химиотерапией 500 mg/m ² per dose every 1 or 2 wk for 2–6 cycles – alone or with chemotherapy	Рефрактерное течение или сочетание с аутоиммунными процессами Refractory nodal and immune-related disease	Механизм действия неясен. Документированы случаи отсутствия ответа или рецидивов The mechanism of action is not well understood. There are reports of refractory or relapsed disease
Иматиниб Imatinib	400–600 мг/сут в течение 7 мес 400–600 mg per d for 7 mo	Рефрактерное течение/рецидив Refractory/relapsed disease	Ответ может быть различным. Возможно, эффективен только в PDGFRα/β-позитивных случаях Variable responses May work only in PDGFRα/β ⁺ cases
Клинические исследования Clinical trials			
Кобиметиниб Cobimetinib	На этапе исследования Per trial guidelines	Рефрактерное течение Refractory disease	Эффективен при болезни Эрджейма–Честера Several case reports on successful treatment of Erdheim–Chester disease with cobimetinib
Клофарабин Clofarabine	25 мг/м ² /сут в течение 5 дней с интервалом в 28 дней, всего 6 циклов 25 mg/m ² per d for 5 d, every 28 d for 6 cycles	Тяжелое диссеминированное или рефрактерное течение. Поражение ЦНС Severe, disseminated, or refractory disease. CNS involvement	Миелотоксичен. Высокая стоимость. Продолжаются проспективные исследования Myelosuppressive and expensive. Ongoing prospective studies

Notes. CNS – central nervous system

от возможности хирургического удаления, локализации поражения и других факторов [3].

Описанный в данной работе случай – редкое для детского возраста течение БРД с сочетанием нодального и экстранодального поражения с локализацией в подкожной клетчатке, костях и селезенке. По классификации БРД случай относится к спорадической экстранодальной форме, поскольку отсутствуют указания на семейную форму, а признаков других системных или аутоиммунных заболеваний более чем за 5 лет наблюдения за ребенком не появилось.

Крайне важной в установлении степени распространенности заболевания оказалась ПЭТ/КТ с ¹⁸F-ФДГ, позволившая выявить абсолютно бессимптомное поражение костей и селезенки и очаги в мягких тканях, не определявшиеся при осмотре. В дальнейшем ПЭТ-КТ также оказалась эффективной в качестве метода оценки ответа на терапию.

Необходимость системного лечения возникла в связи с прогрессией заболевания после хирургической санации. При первоначальном выборе терапии (циклофосфан + винкристин + преднизолон) мы руководствовались необходимостью избрать наименее токсичный с учетом возраста ребенка (менее 4 лет), но достаточно интенсивный курс лечения, однако он оказался неэффективным. Применение кладрибина позволило сократить объем поражения, а полная и длительная регрессия очагов была достигнута на терапии 6-МП и метотрексатом. Поскольку рекомендаций по длительности терапии не разработано, при отмене лечения мы руководствовались достижением полного регресса заболевания и отсутствием реакции в течение 6 мес.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

БРД – многоликое заболевание, которое может быть верифицировано только на основании гистологического исследования пораженной ткани. Поскольку спектр возможной локализации очень широк и охватывает практически все ткани и органы, с этой патологией может столкнуться врач любой специальности. Важно помнить о необходимости гистологической верификации неясных очаговых поражений с помощью открытой биопсии. В план первичного обследования пациента с подтвержденной БРД рекомендуется включать ПЭТ/КТ с ¹⁸F-ФДГ для выявления бессимптомных очагов. Терапевтические опции, если системное лечение оказывается необходимым, достаточно разнообразны, а относительно медленное течение заболевания позволяет сменить лечебную тактику, если ответ на первично выбранную терапию недостаточен.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Rudneva A.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6628-0760>
Abramov D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3664-2876>
Sharlay A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5354-7067>
Likar Yu.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6158-2222>
Vorozhtsov I.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3932-6257>
Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Литература

- Di Dio F., Mariotti I., Coccolini E., Bruzzi P., Predieri B., Iughetti L. Unusual presentation of Rosai–Dorfman disease in a 14-month-old Italian child: a case report and review of the literature. *BMC Pediatr* 2016; 16: 62.
- Goyal G., Ravindran A., Young J.R., Shah M.V., Bennani N.N., Patnaik M.M., et al. Clinicopathological features, treatment approaches, and outcomes in Rosai–Dorfman disease. *Haematologica* 2020; 105 (2): 348–57.
- Abla O., Jacobsen E., Picarsic J., Krenova Z., Jaffe R., Emile J.-F., et al. Consensus recommendations for the diagnosis and clinical management of Rosai–Dorfman–Destombes disease. *Blood* 2018; 131 (26): 2877–90.
- Bruce-Brand C., Schneider J.W., Schubert P. Rosai–Dorfman disease: an overview. *J Clin Pathol* 2020; 73 (11): 697–705.
- Antuña Ramos A., Alvarez Vega M.A., Alles J.V., Antuña García M.J., Meilán Martínez A. Multiple involvement of the central nervous system in Rosai–Dorfman disease. *Pediatr Neurol* 2012; 46 (1): 54–6.
- Hong C.S., Starke R.M., Hays M.A., Mandell J.W., Schiff D., Asthagiri A.R. Redefining the Prevalence of Dural Involvement in Rosai–Dorfman Disease of the Central Nervous System. *World Neurosurg* 2016; 90: 702.
- Ahmed A., Crowson N., Magro C.M. A comprehensive assessment of cutaneous Rosai–Dorfman disease. *Ann Diagn Pathol* 2019; 40: 166–73.
- Потекаев Н.Н., Львов А.Н., Бобко С.И., Миченко А.В., Кочетков М.А., Важбин Л.Б. и др. Кожная форма болезни Розаи–Дорфмана. *Клиническая дерматология и венерология* 2017; 16 (1): 30–9.
- Mosheimer B.A., Oppl B., Zandieh S., Fillitz M., Keil F., Klaushofer K., et al. Bone Involvement in Rosai–Dorfman Disease (RDD): a Case Report and Systematic Literature Review. *Curr Rheumatol Rep* 2017; 19 (5): 29.
- Dong R.F., Gong L.H., Zhang W., Li L., Sun X.Q., Zhang M., et al. Primary intraosseous Rosai–Dorfman disease: a clinicopathological analysis of fourteen cases. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2020; 49 (9): 904–9.
- Diamond E.L., Durham B.H., Haroche J., Yao Z., Ma J., Parikh S.A., et al. Diverse and Targetable Kinase Alterations Drive Histiocytic Neoplasms. *Cancer Discov* 2016; 6 (2): 154–65.
- Garces S., Medeiros L.J., Patel K.P., Li S., Pina-Oviedo S., Li J., et al. Mutually exclusive recurrent *KRAS* and *MAP2K1* mutations in Rosai–Dorfman disease. *Mod Pathol* 2017; 30 (10): 1367–77.
- Shanmugam V., Margolske E., Kluk M., Giorgadze T., Orazi A. Rosai–Dorfman Disease Harboring an Activating *KRAS* K117N Missense Mutation. *Head Neck Pathol* 2016; 10 (3): 394–9.
- Richardson T.E., Wachsmann M., Oliver D., Abedin Z., Ye D., Burns D.K., et al. *BRAF* mutation leading to central nervous system Rosai–Dorfman disease. *Ann Neurol* 2018; 84 (1): 147–52.
- Suryaprakash S., George A., Langenburg S., Savaşan S. Pediatric recurrent Rosai–Dorfman disease with germline heterozygous *SLC29A3* and somatic *MAP2K1* mutations. *Ann Hematol* 2020; 99 (12): 2965–7.
- Gupta A., Arora P., Batrani M., Sharma P.K. Multifocal cutaneous Rosai–Dorfman disease masquerading as lupus vulgaris in a child. *An Bras Dermatol* 2018; 93 (5): 766–8.
- Danisious T., Hettiarachchi M., Dharmadasa C., Jayaweera H. Rosai–Dorfman disease with renal involvement and associated autoimmune haemolytic anaemia in a 12-year-old girl: A case report. *BMC Pediatr* 2020; 20 (1): 470.
- Zanelli M., Goteri G., Mengoli M.C., Capelli D., De Marco L., Valli R., et al. Rosai–Dorfman Disease Involving Bone Marrow in Association With Acute Myeloid Leukemia. *Int J Surg Pathol* 2019; 27 (4): 396–8.
- Moore J.C., Zhao X., Nelson E.L. Concomitant sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy (Rosai–Dorfman Disease) and diffuse large B-cell lymphoma: a case report. *J Med Case Rep* 2008; 2: 70.
- Швец О.А., Абрамов Д.С., Хорева А.Л., Першин Д.Е., Києва А.М., Пшонкин А.В. Лимфаденопатия по типу болезни Розаи–Дорфмана у пациента с синдромом Вискотта–Олдрича: сложности диагностики. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2020; 19 (1): 108–15.
- Foucar E., Rosai J., Dorfman R.F. Sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy. An analysis of 14 deaths occurring in a patient registry. *Cancer* 1984; 54 (9): 1834–40.
- Veloso J.D.C., Siqueira S.A.C., Zerbini M.C.N. Rosai–Dorfman disease: a rare entity diagnosed at autopsy. *Autops Case Rep* 2013; 3 (1): 23–8.
- Cobimetinib in Refractory Langerhans Cell Histiocytosis (LCH), and Other Histiocytic Disorders. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04079179>
- Foucar E., Rosai J., Dorfman R. Sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy (Rosai–Dorfman disease): review of the entity. *Semin Diagn Pathol* 1990; 7 (1): 19–73.
- Emile J.F., Abla O., Fraitag S., Horne A., Haroche J., Donadieu J., et al. Revised classification of histiocytoses and neoplasms of the macrophage-dendritic cell lineages. *Blood* 2016; 127 (22): 2672–81.
- International Rare Histiocytic Disorders Registry (IRHDR) . [Electronic resource] URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02285582> (access 14.02.2022).
- A Study of Memory, Thinking, and Brain Imaging in Adults With Histiocytosis. [Electronic resource] URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03127709> (access 14.02.2022).
- Mahajan S., Nakajima R., Yabe M., Dogan A., Ulaner G.A., Yahalom J., et al. Rosai–Dorfman Disease – Utility of ¹⁸F-FDG PET/CT for Initial Evaluation and Follow-up. *Clin Nucl Med* 2020; 45 (6): e260–6.

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 12.09.2022
Принята к печати 13.01.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-110-121

Редкая причина экссудативной энтеропатии у ребенка раннего возраста – гистиоцитоз из клеток Лангерганса

Г.Б. Мовсисян¹, А.Д. Комарова¹, К.А. Куликов¹, И.И. Калинина², М.М. Лохматов¹,
В.И. Олдаковский¹, Р.Ф. Тепаев¹, Е.А. Рославцева¹, А.С. Потапов¹, Н.Е. Щиголева¹,
А.И. Материкин¹, К.В. Савостьянов¹

¹ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Мовсисян Гоар Борисовна,
канд. мед. наук, старший научный
сотрудник лаборатории редких
наследственных болезней у детей,
врач-педиатр, врач-гастроэнтеролог
гастроэнтерологического отделения с
гепатологической группой ФГАУ «НМИЦ
здоровья детей» Минздрава России
Адрес: 119991, Москва,
Ломоносовский просп., 2, стр. 1
E-mail: Movsisyan@nczd.ru

Экссудативная энтеропатия – клинический синдром, который характеризуется чрезмерной потерей белков через желудочно-кишечный тракт и представляет собой редкое осложнение различных гастроинтестинальных заболеваний. Одной из самых редких причин развития мальабсорбции белка является гистиоцитоз из клеток Лангерганса, возникающий в исходе воспалительной неоплазии миелоидных клеток-предшественников, вызванной мутациями в митоген-активируемом протеинкиназном пути. Аномальная пролиферация и аккумуляция клеток Лангерганса в стенке кишки приводят к нарушению оттока лимфы и обуславливают характерные для энтеропатии клинические проявления. Учитывая, что поражение желудочно-кишечного тракта при гистиоцитозе из клеток Лангерганса встречается в 2–3% случаев, а клинические признаки не являются высокоспецифичными, своевременная диагностика затруднена. Отсроченная верификация диагноза и позднее начало адекватного лечения являются факторами риска мультисистемного поражения и обуславливают неблагоприятный исход. В литературе описаны немногочисленные наблюдения начала или проявления заболевания с симптомов мальабсорбции белка. Нами представлен редкий клинический случай диагностики гистиоцитоза из клеток Лангерганса у ребенка раннего возраста с тяжелыми проявлениями экссудативной энтеропатии в дебюте. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях. Рефрактерная гастроинтестинальная симптоматика требует обязательного эндоскопического и гистологического исследования для выявления редких причин мальабсорбции. Своевременная инициация таргетной терапии препаратом вемурафениб в сочетании с последующей химиотерапией позволила обеспечить ребенку благоприятный прогноз и стойкую ремиссию заболевания.

Ключевые слова: клинический случай, дети, экссудативная энтеропатия, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, таргетная терапия, вемурафениб

Мовсисян Г.Б. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 110–21. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-110-121

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 12.09.2022
Accepted 13.01.2023

Langerhans cell histiocytosis: a rare cause of exudative enteropathy in a young child

G.B. Movsisyan¹, A.D. Komarova¹, K.A. Kulikov¹, I.I. Kalinina², M.M. Lokhmatov¹, V.I. Oldakovskiy¹, R.F. Tepaev¹,
E.A. Roslavitseva¹, A.S. Potapov¹, N.E. Shchigoleva¹, A.I. Materikin¹, K.V. Savostyanov¹

¹National Medical Research Center for Children's Health of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Goar B. Movsisyan,
Cand. Med. Sci., a senior researcher at the
Laboratory of Rare Hereditary Diseases in
Children, a pediatrician, a gastroenterologist
of the Gastroenterology Department with
Hepatology Group, National Medical Research
Center for Children's Health of Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 2, building 1,
Lomonosovskiy Avenue, 119991, Moscow
E-mail: Movsisyan@nczd.ru

Exudative enteropathy is a clinical syndrome characterized by excessive loss of proteins through the gastrointestinal tract and is a rare complication of various gastrointestinal diseases. One of the rarest causes of protein malabsorption is Langerhans cell histiocytosis, which occurs as a result of inflammatory neoplasia of myeloid precursor cells caused by mutations in the mitogen-activated protein kinase pathway. Abnormal proliferation and accumulation of Langerhans cells in the intestinal wall leads to a violation of the outflow of lymph, and causes clinical manifestations characteristic of enteropathy. Given that the lesion of the gastrointestinal tract with histiocytosis from Langerhans cells occurs in 2–3% of cases, and the clinical signs are not highly specific, timely diagnosis is difficult. Delayed verification of the diagnosis and late initiation of adequate treatment are risk factors for multisystem lesions and lead to an unfavorable outcome. The literature describes a few observations of the onset or manifestation of the disease with symptoms of protein malabsorption. We present a rare clinical case of diagnosing histiocytosis from Langerhans cells in a young child with severe manifestations of exudative enteropathy at the onset. The patient's parents gave their consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications. Refractory gastrointestinal symptoms require mandatory endoscopic and histological examination to identify rare causes of malabsorption. Timely initiation of targeted therapy with vemurafenib in combination with subsequent chemotherapy provided the child with a favorable prognosis and stable remission of the disease.

Key words: clinical case, children, exudative enteropathy, Langerhans cell histiocytosis, targeted therapy, vemurafenib

Movsisyan G.B., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 110–21.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-110-121

Экссудативная энтеропатия (ЭЭ) – это поли-этиологический синдром, основным проявлением которого является повышенная потеря сывороточных белков через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) с развитием выраженной гипопроотеинемии (гипоальбуминемия, гипогаммаглобулинемия) и отечного синдрома. ЭЭ может быть как первичным проявлением различных болезней, так и их субклиническим компонентом. Тяжесть течения данного патологического состояния предопределяет необходимость информирования специалистов широкого спектра не только о частых, но и о редких причинах его возникновения. Известно несколько механизмов развития потери белка через ЖКТ, среди которых выделяют 4 основных: нарушение оттока лимфы (обструкция кишечных лимфатических узлов первичная и вторичная и кардиальные причины повышенного системного венозного давления); генетические причины (нарушение гликозилирования, ювенильный полипоз); воспалительные заболевания ЖКТ (инфекционные и неинфекционные с развитием эрозий и язв и без таковых); неинфекционные причины с нарушением барьерных функций энтероцитов (без деструктивных изменений слизистой оболочки) [1–4].

Полиэтиологичность ЭЭ, частота ее встречаемости в педиатрической практике, неспецифичность клинических проявлений (гипопроотеинемия и отеки) затрудняют своевременную диагностику заболеваний, приводящих к данному состоянию, и назначение адекватного лечения.

Одной из самых редких причин ЭЭ является гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ, гистиоцитоз X), который представляет собой воспалительную неоплазию миелоидных клеток-предшественников, вызванную мутациями в митоген-активируемом протеинкиназном пути. Патогенез ЭЭ при ГКЛ заключается в инфильтрации кишечника патологическими клетками Лангерганса, что ведет к нарушению лимфооттока и развитию вторичной лимфангиэкстазии с нарушением функции органа [5, 6].

Этиология и патогенез ГКЛ в настоящее время до конца не изучены. Данных, свидетельствующих в пользу инфекционной и генетической этиологий, не получено. У 50% пациентов в ГКЛ выявляется соматическая мутация V600E в гене *BRAF*. В основе механизма развития заболевания лежат 2 взаимодополняющие друг друга теории: клональная пролиферация патологических клеток Лангерганса и аномальная регуляция взаимодействия клеток иммунной системы в очагах поражения в сочетании с нарушением цитокиновых реакций [7–10].

Среди гистиоцитарных нарушений ГКЛ является наиболее распространенным, поражая от 4 до 5 на 1 млн детей в возрасте от 0 до 15 лет каждый год. Поскольку локализованное заболевание часто

спонтанно регрессирует, распространенность, вероятно, выше, чем сообщается. Средний возраст постановки диагноза составляет 3,5 года, а самый высокий уровень заболеваемости приходится на первый год жизни [7, 11–13].

В настоящее время ГКЛ классифицируется по поражению одной или нескольких систем органов, одного или нескольких участков в конкретной системе органов и наличию поражения органов риска, которые включают в себя печень, селезенку и костный мозг. У большинства пациентов наблюдается поражение одной системы (70%). Из пациентов с мультисистемной формой заболевания около 50% имеют более 1 пораженного органа риска [14–16].

Наиболее часто поражаемыми органами в целом являются кости (60–80%), кожа (33%), гипопиз (25%), печень (15%), селезенка (15%), кроветворная система (15%), легкие (10%), лимфатические узлы (5–10%) и центральная нервная система, исключая гипопиз (2–4%) [14–16].

В литературе при условии низкой встречаемости ГКЛ у детей первого года жизни чаще описываются случаи, где заболевание дебютирует с поражения костей, кожи, уха и слизистых оболочек [16, 17]. Манифестация с поражения ЖКТ представлена редкими наблюдениями, составляет примерно 2–3% случаев у детей и ассоциирована с мультисистемным поражением с клиникой тяжелой протеинтерияющей энтеропатии, гемоколиты, мальабсорбции, задержки физического развития [18–21]. Рефрактерное течение гастроинтестинальной клинической симптоматики требует обязательного проведения пациенту эндоскопического исследования с биопсией кишечника и последующим дополнительным дифференциально-диагностическим исследованием гистологического материала с применением иммуногистохимических реакций с антителами к CD1α и S100, позитивных в гистиоцитах [22, 23].

Прогноз при данной форме ГКЛ неблагоприятный, однако своевременное применение в современной практике ингибитора BRAF-киназ с активирующими мутациями в кодоне V600E дает надежду на благоприятный исход [24–26].

Нами представлен редкий клинический случай ГКЛ у ребенка раннего возраста с дебютом в виде ЭЭ, осложнившейся развитием гемофагоцитарного синдрома, и его успешной терапии препаратом вемурафениб. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Девочка, 1 год 3 месяца, поступила впервые в гастроэнтерологическое отделение с гепатоло-

гической группой ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с жалобами на генерализованные отеки, сниженный аппетит, частый до 10–15 раз/сут водянистый стул, бледность кожных покровов, выраженную вялость, регресс навыка самостоятельной ходьбы, высыпания на коже волосистой части головы в виде корочек.

Из анамнеза жизни известно, что ребенок от 2-й беременности, 2-х срочных родов на 39–40-й неделе, протекавших на фоне *herpes labialis* на 13-й неделе, нефрита инфекционного генеза на 20-й неделе, кольпита на 34-й неделе. При рождении: масса тела – 4850 г, длина тела – 57 см. Период новорожденности протекал без особенностей. Нервно-психическое развитие в соответствии с возрастом. Профилактические прививки согласно национальному календарному плану. Наследственный анамнез не отягощен. Аллергоанамнез: у старшей сестры поллиноз. Глютен-содержащие продукты (печенье, сухари, овсянка) в рационе с 6–7 месяцев, с 1 года – манная каша на молоке, мультизлаковые каши, хлеб с общего стола.

Дебют заболевания отмечен в возрасте 1 года 2 месяцев, когда впервые появились и начали нарастать отеки на лице, голених, стопах, девочка стала вялой, апатичной, перестала ходить, вставать на ножки, также отмечались диспепсические явления в виде разжиженного учащенного стула с неперева-ренными остатками пищи.

В связи с жалобами госпитализирована по месту жительства в кардио-нефрологическое отделение, где после проведенного обследования были исключены острый гломерулонефрит, гемолитико-уремический синдром, врожденные пороки сердца. Выставлен диагноз: отечный синдром неясного генеза. Получала антибактериальную, диуретическую, иммуносупрессивную (преднизолон) и антигистаминную терапию. На фоне лечения отмечались нарастание отека, слабости, вялости, снижение аппетита.

В возрасте 1 года 3 месяцев, учитывая сохранение жалоб, неоднократно осматривалась специалистами медицинского центра г. Твери. Проводилась оценка гормонального профиля: уровень инсулина, пролактина, кортизола, адренотропного гормона, 17-ОН-прогестерона, тиреотропного гормона, свободного Т3 и Т4, антител к тиреоидной пероксидазе в пределах нормальных значений. Концентрация иммуноглобулинов А (IgA), М, G (IgG) и циркулирующих иммунных комплексов не изменена, незначительно увеличен уровень иммуноглобулина Е (72,1 Ед/л). По данным инфекционной серологии выявлены антитела к цитомегаловирусу IgG в титре 8,38 Ед/мл. Исключено течение герпесвирусной инфекции 1, 2, 6-го

типов, вируса Эпштейна–Барр, цитомегаловируса, аскаридоза.

Обнаружены высокие титры антител к глиадину IgG > 100 Ед/мл и IgA 23,40 Ед/мл, на основании которых выставлен диагноз: целиакия. Назначена безглютеновая диета, однако состояние не улучшилось, сохранялись отеки. Исследование антител к тканевой трансглутаминазе не проводилось.

Позже родители самостоятельно обратились в стационар, куда девочка была экстренно госпитализирована с жалобами на отеки, бледность кожи, слабость, вялость, снижение аппетита, разжиженный стул с неперева-ренными остатками пищи.

При поступлении: масса тела 11,5 кг, частота дыхательных движений 28/мин, частота сердечных сокращений 96 уд/мин, температура тела 36,6°C, SpO₂ 99%. Состояние тяжелое по заболеванию. Двигательная активность снижена, не встает на ножки, не ходит, быстро засыпает после осмотра. Не лихорадит. Катаральных явлений нет. Кожные покровы бледные, чистые, выраженные отеки лица, туловища, конечностей. Аппетит снижен. Живот мягкий, безболезненный, увеличен в объеме. Печень + 5 см ниже края реберной дуги, селезенка + 3–4 см ниже края реберной дуги. Стул разжиженный, скудный, от 6–7 раз/сут, зеленоватый без примесей.

Лабораторно в общем анализе крови выявлена анемия (гемоглобин 113 г/л, в динамике снижение до 93 г/л), эритропения максимально до $3,7 \times 10^{12}/л$, тромбоциты $180 \times 10^9/л$, лейкоцитоз до $14,5 \times 10^9/л$, максимально до $22,5 \times 10^9/л$, скорость оседания эритроцитов 2 мм/ч. В биохимическом анализе крови обращали на себя внимание уровни общего белка – 36,0 г/л, аланинмаинотрансферазы – 40,0 Ед/л, глюкозы – 2,2 ммоль/л, С-реактивного белка – 5,4 мг/л, холестерина 2,1 ммоль/л, щелочной фосфатазы – 242,0 Ед/л, альфа-фетопротеина – до 25,7 МЕд/мл. Фекальный кальпротектин был повышен до 3841,8 мкг/г.

При инструментальном обследовании: по данным ультразвукового исследования (УЗИ) органов брюшной полости (ОБП) выявлены диффузные изменения паренхимы печени, гепатомегалия, мезентериальная лимфаденопатия, свободная жидкость в брюшной полости. На компьютерной томографии (КТ) ОБП визуализированы признаки гепатомегалии с единичным гиперваскулярным очагом левой доли печени, абдоминальной лимфаденопатии, анасарки. Установлен диагноз: воспалительное заболевание кишечника недифференцированное. Целиакия, ЭЭ, генерализованный отечный синдром.

В течение 8 дней пациентка получала преднизолон 10 мг/сут, проведена заместительная терапия альбумином.

В динамике на фоне проводимого лечения отмечались подъемы температуры тела 1 раз в 2 дня до фебрильных цифр без катаральных явлений, снижение массы тела до 10 800 г (–1700 г), уменьшение отеков. Однако вялость, сниженная двигательная активность, отсутствие аппетита и частый разжиженный зеленовато-коричневый стул сохранялись.

В связи с прогрессией заболевания, отсутствием эффекта от проводимой терапии в возрасте 1 года 3 месяцев девочка была госпитализирована в гастроэнтерологическое отделение с гепатологической группой НМИЦ здоровья детей.

При поступлении (рисунки 1, 2): длина тела 80 см, масса тела 10,8 кг, температура тела 36,8°C, частота дыхательных движений 29/мин, SpO₂ 98%, частота сердечных сокращений 115 уд/мин, артериальное давление 90/60 мм рт. ст. Состояние тяжелое по заболеванию за счет отеков и анемии. Положение лежа в постели. Сознание ясное, вялая, капризная, двигательная активность снижена, не встает самостоятельно на ножки, не ходит, быстро засыпает после осмотра. Менингеальных знаков нет. Не лихорадит. Катаральных явлений нет. Кожные

покровы бледные, желтоватые корки на коже волосистой части головы в заушной области, напоминающие картину Гнейса, геморрагические элементы на нижних конечностях, мраморность кожных покровов. Тургор тканей резко снижен. Выраженные отеки лица, туловища, конечностей. Слизистые влажные, чистые. Зев розовый, налетов нет. Носовое дыхание не затруднено, отделяемого нет. Аппетит снижен, пьет охотно, рвота не отмечалась. Периферические лимфоузлы не увеличены. Грудная клетка правильной формы, обе половины одинаково участвуют в акте дыхания. В легких перкуторно легочный звук, аускультативно дыхание пузрыльное, проводится равномерно, хрипов нет. Тоны сердца ритмичные, громкие, границы не расширены, систолический шум вдоль левого края грудины. Живот мягкий, безболезненный, увеличен в объеме за счет метеоризма и гепатоспленомегалии, симптомов раздражения брюшины нет. Печень + 3 см ниже края реберной дуги, селезенка + 1 см ниже края реберной дуги. Стул разжиженный, скудный, зеленоватый без патологических примесей до 4–5 раз/сут. Мочится в памперс. Моча светло-желтая, диурез не учитывался.

Рисунок 1
Внешний вид ребенка при поступлении

Figure 1
The child's appearance at admission



Рисунок 2
Кожные проявления болезни при поступлении

Figure 2
The skin manifestations of the disease at admission



По данным лабораторного исследования в общем анализе крови: анемия (гемоглобин 72–75 г/л), эритропения до $2,93 \times 10^{12}/л$, тромбоциты $23\text{--}51 \times 10^9/л$, глюкокортикостероид-ассоциированный и воспалительный лейкоцитоз $14\text{--}22,5 \times 10^9/л$, в биохимическом анализе крови: признаки мальабсорбции – гипопроteinемия (общий белок до 33 г/л, альбумин 22 г/л), скорректированная введением альбумина, гипогаммаглобулинемия (IgG – 3,76 г/л), дефицит железа (2 мкмоль/л), витамина D до 3 нг/мл, витамина B₁₂, признаки холестаза в виде повышения гамма-глутамилтрансферазы до 350 Ед/л и общего билирубина до 33 мкмоль/л за счет непрямой фракции, воспалительная активность в виде повышения С-реактивного белка до 20 мг/л. В коагулограмме признаки гипокоагуляции (протромбиновый индекс 24–56–75%, снижение фибриногена, протромбиновое время 18 с, активированное частичное тромбопластиновое время 38–50 с) на фоне дефицита антикоагуляционных факторов в виде снижения антитромбина III до 45%. При плановых оценках кислотно-щелочного состояния диагностировались электролитные нарушения, в связи с чем регулярно проводилась инфузионная терапия стерофундином, йоностериллом. Антитела к тканевой транскламиназе отрицательные, что снижало вероятность целиакии. Маркеры аутоиммунных заболеваний отрицательные. В копрограмме обилие нейтрального жира, кальпротектин 878 мкг/г, панкреатическая эластаза в кале снижена до 50 мкг/г, альфа-1-антитрипсин повышен.

При УЗИ ОБП в просвете петель тонкой кишки жидкостное содержимое, стенки кишки отечные. Петли толстой кишки расширены, в просвете большое количество содержимого с преобладанием жидкостного компонента. Свободная жидкость в незначительном количестве по висцеральному краю печени. УЗ-признаки гепатоспленомегалии, диффузного паренхиматозного процесса печени, перипортального фиброза, периваскулярной реакции в селезенке, вторичных изменений поджелудочной железы и желчного пузыря. По данным фиброзэластометрии печени: при проведении серии измерений в правой доле печени медиана 7,9 кПа, повышена. Колебания показателей эластичности в отдельных измерениях от 6,4 до 14,2 кПа; IQR 1,9; S. rate 100%. Заключение: результаты могут соответствовать умеренному фиброзу печени (F2 по шкале METAVIR). При УЗИ щитовидной железы, почек и мочевого пузыря патологии не выявлено.

По данным эхокардиографии при поступлении: выпот в полости перикарда в умеренном количестве. Полости сердца не расширены, стенки не утолщены, перегородки интактны, клапаны и крупные сосуды не изменены, функциональные параметры

сердца в норме. Данных за врожденный порок сердца нет.

В связи с синдромом мальабсорбции ребенок проконсультирован диетологом, скорректирована диета, рекомендовано дообследование в виде проведения HLA-типирования на DQ2/8, эзофагогастродуоденоскопии и колоноскопии с биопсией и морфологическим исследованием (12-перстная кишка, тощая кишка) в рамках дифференциально-диагностического поиска среди заболеваний, сопровождающихся синдромом мальабсорбции, в первую очередь с учетом клинической картины кишечной лимфангиозектазии и тяжелым течением целиакии. В связи с низким уровнем панкреатической эластазы в кале (< 50 мкг/г) начата ферментозаместительная терапия панкреатином.

По поводу изменений кожи волосистой части головы в виде гнейса ребенок консультирован дерматологом, даны рекомендации: антигистаминные препараты, местная терапия кожи.

В виду регресса навыков ребенок консультирован психоневрологом: выявленные изменения обусловлены течением основного заболевания.

С учетом рефрактерного течения ЭЭ для исключения наследственной патологии ребенок консультирован генетиком. Рекомендовано дообследование для исключения редких причин синдрома мальабсорбции.

По данным дополнительных методов исследования:

- иммунофенотип лимфоцитов крови – повышение абсолютного числа В-лимфоцитов;
- аполипротеин В в крови – в норме;
- антитела к бокаловидным клеткам энтероцитов – отрицательные;
- электрофорез изоформ трансферринов плазмы крови – без отклонений;
- молекулярно-генетическое обследование – поиск мутаций в гене *MPL* – мутаций не выявлено.

На фоне лечения отмечено снижение гемоглобина до 70 г/л, тромбоцитов – до $4 \times 10^9/л$, гранулоцитов до $1,62 \times 10^9/л$, в биохимическом анализе крови сохранялся дефицит альбумина до 27 г/л, общего белка до 38 г/л за счет глобулиновой фракции, в связи с чем инфузии альбумина переведены в плановый режим введения. По данным коагулограммы: протромбиновый индекс 42%, протромбиновое время 23 с, Международное нормализованное отношение 1,67, тромбоциновое время 25 с, активированное частичное тромбопластиновое время 48 с, фибриноген 0,6 г/л, антитромбин 14%, D-димер 0,28 нг/мл.

По данным КТ ОБП, сделанной до госпитализации: печень увеличена в размерах (поперечные размеры 89 × 134 мм, вертикальный – 109 мм), контуры печени ровные, рентгеновская плотность не изменена; отме-

чается диспропорциональность сегментов левой доли. В проекции субкапсулярных отделов III сегмента левой доли печени определяется гиперваскулярный очаг диаметром до 6 мм. Селезенка расположена обычно, форма, размеры и плотность не изменены. Стенки кишечника без видимых участков локального утолщения. Мезентериальные лимфатические узлы множественные, с тенденцией к слиянию, диаметром до 12 мм. Парааортальные лимфатические узлы не увеличены. В брюшной полости и малом тазу определяется жидкость. На исследованных уровнях в обеих плевральных полостях определяется жидкость до 10 мм толщиной. В проекции перикарда жидкость на уровне верхушки сердца толщиной до 10 мм. Мягкие ткани исследованных уровней с явлениями отека. Заключение: КТ-картина гепатомегалии с единичным гиперваскулярным очагом левой доли печени (шунт? гемангиома?), КТ-признаки абдоминальной лимфаденопатии, анасарки.

В динамике на серии КТ органов грудной полости очаговых и инфильтративных изменений не выявлено. Пневматизация долей и сегментов несколько неравномерная за счет участков усиления интерстициального легочного рисунка в задних базальных отделах легких и в парамедиастинальных отделах верхней доли правого легкого. На серии КТ ОБП по сравнению со снимками, представленными из другого учреждения, печень увеличена в размере с диффузным снижением рентгеновской плотности до 10–15 HU. Отмечается уменьшение количества жидкости в брюшной полости и отека мягких тканей исследованных уровней. Мезентериальные лимфатические узлы с небольшим уменьшением размеров с 12 до 8 мм. Заключение: острые очаговые и инфильтративные изменения в легких не выявлены. Невыраженные интерстициальные изменения обоих легких (застойного? отека? характера), более вероятно, связанные с основным заболеванием. КТ-картина гепатомегалии с появлением выраженного диффузного снижения плотности печени. Абдоминальная лимфаденопатия и отечный синдром с положительной динамикой.

В целях исключения поражения костной ткани проведена рентгенография черепа, в результате которой костно-деструктивных изменений не выявлено.

При УЗИ сердца в динамике в правом предсердии визуализирован тромб (16 × 12 × 11 мм и 14 × 8 × 6,5 мм) на фоне постановки центрального катетера, умеренное нарастание выпота в полости перикарда без признаков тампонады. Функциональные параметры сердца в норме.

В связи с ЭЭ с гемоколитом, некорректируемой гипопроотеинемией, нарушением кишечного всасывания с полидефицитным синдромом (анемия,

гипокальциемия), поражением печени невирусной этиологии, выраженным дефицитом физиологических антикоагулянтов (антитромбин III, протеин С), осложненным тромбозом в полость правого предсердия, а также в связи с развитием гемофагocитарного синдрома (цитопения с нарастанием уровня ферритина до 1333 нг/мл, триглицеридов до 4 ммоль/л) пациентка в течение 2 нед находилась в отделении реанимации и интенсивной терапии, где проводилась посиндромная терапия. За время пребывания в отделении с учетом синдрома мальабсорбции, коагуляционных нарушений и тромба в правом предсердии проводилось исключение нарушения гликозилирования, тип 1b, в связи с чем применялись полное парентеральное питание и пробный энтеральный прием маннозы – без особого эффекта. На фоне лечения состояние стабилизировалось, ребенок переведен в гастроэнтерологическое отделение для дальнейшего обследования.

В целях дифференциальной диагностики с онкогематологической патологией ребенку выполнена пункция костного мозга. По результатам гистологического исследования ткань костного мозга представлена клетками всех ростков кроветворения. Миелоидный росток с выраженной базофильной окраской цитоплазмы молодых клеток миелоидного ряда. В эритроидном ряду встречаются скопления нормобластов, отмечаются признаки дизэритропоэза. Мегакариоцитов много, разных стадий созревания, среди них встречаются микромегакариоциты и мегакариобласты. Плазматические клетки присутствуют.

По согласованию с гематологом и трансфузиологом для подготовки к эндоскопическому поднаркозному исследованию рекомендована коррекция коагулопатии в виде дефицита фибриногена путем введения криопреципитата. Учитывая нарастание тромбоцитопении, эритропении и анемии в рамках хронического заболевания неоднократно проводилась заместительная гемотрансфузионная терапия эритроцитарной взвесью, тромбоконцентратом, свежзамороженной плазмой. В динамическом контроле лабораторных показателей у ребенка на фоне неоднократных гемотрансфузий: гемоглобин 68 г/л, эритроциты $2,64 \times 10^{12}/л$, гематокрит 21,8%, лейкоциты $18,59 \times 10^9/л$, нейтрофилы $7,09 \times 10^9/л$, тромбоциты $26 \times 10^9/л$, скорость оседания эритроцитов 5 мм/ч. Прокальцитонин 0,723 нг/мл. С-реактивный белок 4,1 мг/л.

Учитывая клинические признаки мальабсорбции, уровень фекального кальпротектина (878 мкг/г) в целях исключения воспалительных заболеваний кишечника и аутоиммунной энтеропатии проведены эзофагогастродуоденоскопия и колоноскопия с биопсией под общим анестезиологическим пособием. Заключение эндоскопического исследования:

дуоденит, еюнит с признаками атрофии ворсинчатого слоя. Распространенный гастрит. Эндоскопические признаки распространенного колита. Сигмоидит. Проктит.

По данным морфологического исследования в слизистой оболочке толстой кишки выявлено фокальное активное воспаление, без признаков, подтверждающих воспалительные заболевания кишечника; фрагмент слизистой оболочки тонкой кишки – в собственной пластинке слизистой оболочки многочисленные макрофаги с эозинофилами, что предполагало наличие либо инфекции, в том числе болезни Уиппла, либо гистиоцитоза. Проведена ШИК-реакция, или реакция Шиффа, или PAS-реакция, в бокаловидных клетках и щеточной кайме, цитоплазма макрофагов с отрицательной реакцией, болезнь Уиппла исключена, ШИК-позитивные гранулы в сегментоядерных клетках, наличие позитивной ШИК-реакции в щеточной кайме на поверхности энтероцитов исключало болезнь включенных ворсин (рисунок 3).

Учитывая геморрагические элементы в заушной области на фоне подъемов температуры тела, в динамике пациента повторно осмотрена дерматологом, проведена биопсия кожи с последующим специфическим окрашиванием: иммуногистохимическая реакция с антителами к CD1α – позитивная реакция в эпидермисе и единичных клетках в дерме, полученные данные не позволяли исключить поражения, характерные для гистиоцитоза (рисунок 4).

На основании полученных данных проведено повторное морфологическое исследование ткани тонкой кишки с использованием иммуногистохимиче-

ских реакций с антителами к CD1α и S100, выявлена позитивная реакция в гистиоцитах, которые расположены в собственной пластинке оболочки и эпителии кишечника (рисунок 5).

Таким образом, при поступлении у ребенка имели место клинические проявления тяжелой ЭЭ в виде частого водянистого стула с примесью слизи, зелени, с неприятным запахом, гипоальбуминемии, электролитных нарушений, дефицита массы тела, микроэлементов, нарушения коагуляционного гемостаза, анемии, осложненными эпизодами вторичного гемафагоцитарного синдрома с цитопенией, нарастанием коагуляционных нарушений, воспалительных маркеров (ферритин, триглицериды, D-димер). Проводилась комплексная посиндромная терапия в виде назначения парентерального питания с коррекцией электролитных нарушений, дефицита витаминов и ограничением энтеральной нагрузки, пробного назначения маннозы по 1–2 г 5 раз в день, гемостатической, противовоспалительной (препараты 5-АСК), антибактериальной терапии с учетом микробиологических посевов, нестероидных противовоспалительных средств при гипертермии, гастро- и гепатопротективной терапии, коррекции белковой недостаточности (инфузия альбумина), тяжелой цитопении (гемотрансфузия эритроцитарной взвеси и тромбоконцентрата), иммунных нарушений (введение человеческого иммуноглобулина), коагуляционных нарушений: переливание свежезамороженной плазмы, введение антитромбина III, гепаринотерапия, терапия варфарином и синтетическим селективным ингибитором активированного фактора X.

Рисунок 3

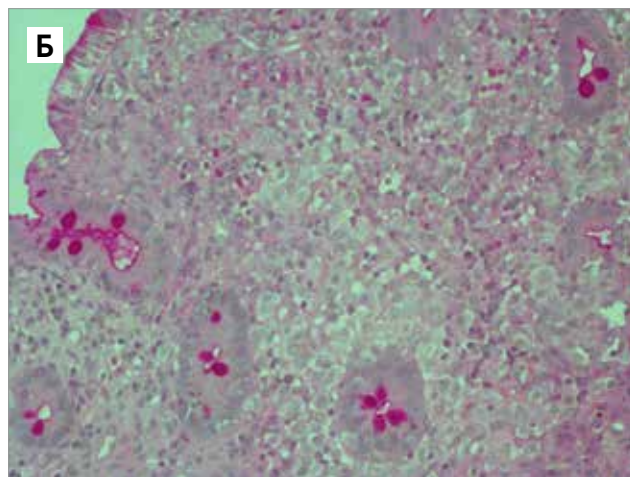
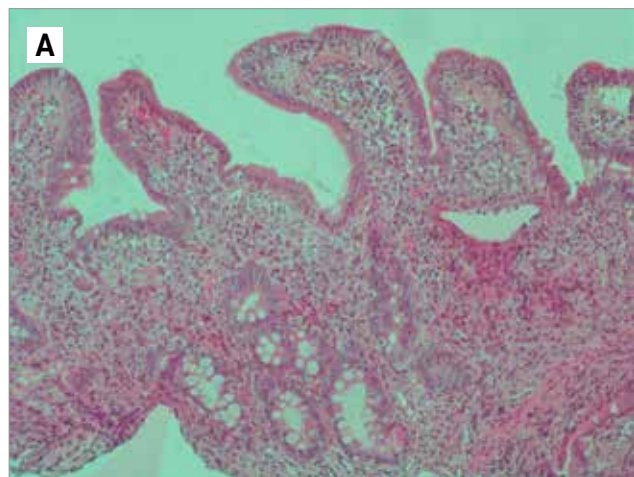
Микропрепарат слизистой оболочки тонкой кишки

А – фрагмент слизистой оболочки тонкой кишки: в собственной пластинке слизистой оболочки многочисленные макрофаги с эозинофилами, что предполагало наличие либо инфекции, в том числе болезни Уиппла, либо гистиоцитоза; Б – ШИК-реакция в бокаловидных клетках и щеточной кайме, цитоплазма макрофагов с отрицательной реакцией, болезнь Уиппла исключена: ШИК-позитивные гранулы в сегментоядерных клетках, наличие позитивной ШИК-реакции в щеточной кайме на поверхности энтероцитов исключает болезнь включенных ворсин

Figure 3

A slide of the small intestine mucosa

А – a fragment of the small intestine mucosa: there are numerous macrophages and eosinophils in the lamina propria, which suggests either an infection, including Whipple's disease, or histiocytosis; Б – a PAS reaction in the goblet cells and brush border, a negative reaction in the cytoplasm of the macrophages, Whipple's disease is excluded: PAS-positive granules in the segmented cells; a positive PAS reaction in the brush border on the surface of the enterocytes excludes microvillus inclusion disease



За период пребывания в отделении ребенку исключены причины тяжелой энтеропатии: целиакия, аутоиммунная энтеропатия, первичная лимфангиэктазия, первичная панкреатическая недостаточность, абеталипопротеинемия, нарушение гликозилирования, воспалительные заболевания кишечника, болезнь Уиппла, болезнь включенных ворсин, миелопролиферативная патология, эндокринная патология.

Принимая во внимание возраст начала заболевания, периодическое повышение температуры тела до фебрильных цифр, гепатоспленомегалию, цитопению с развитием гемофагоцитарного синдрома, проявления ЭЭ в отсутствии классических симптомов

в виде поражения костей и легких у ребенка, результаты морфологического исследования биоптатов кожи и тонкого кишечника после иммуногистохимической реакции и пересмотра биопсийного материала в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева установлен окончательный диагноз: ГКЛ.

Для оказания специализированной помощи пациентка переведена в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Состояние при переводе тяжелое в связи с течением основного заболевания, с положительной динамикой в виде регресса отеков, повышения физической активности, урежения частоты и улучшения консистенции стула, улучшения настроения на фоне посиндромной терапии. Масса тела 10 280 г. Кожные

Рисунок 4

Кожные изменения при ГКЛ

А – геморрагические элементы в заушной области; Б – микропрепарат кожи: иммуногистохимическая реакция с антителами к CD1α, позитивная реакция в эпидермисе и единичных клетках в дерме

Figure 4

The skin changes in Langerhans cell histiocytosis (LCH)

A – hemorrhagic areas in the postauricular area; Б – a slide of the skin: immunohistochemical reaction with antibodies to CD1α, a positive reaction in the epidermis and in single cells in the dermis

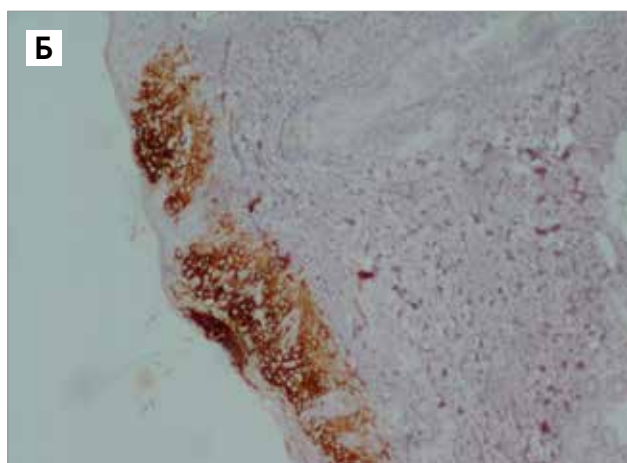


Рисунок 5

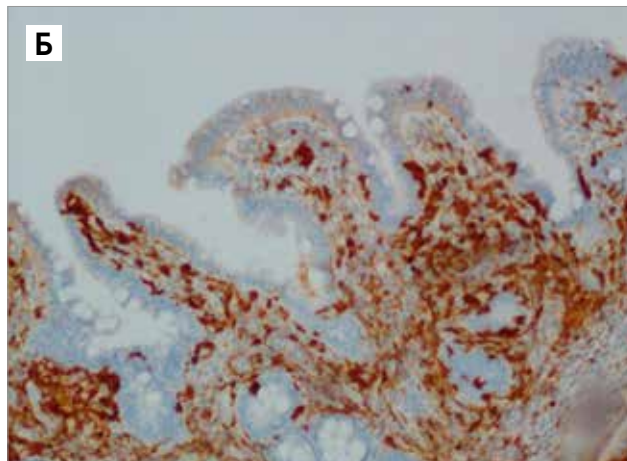
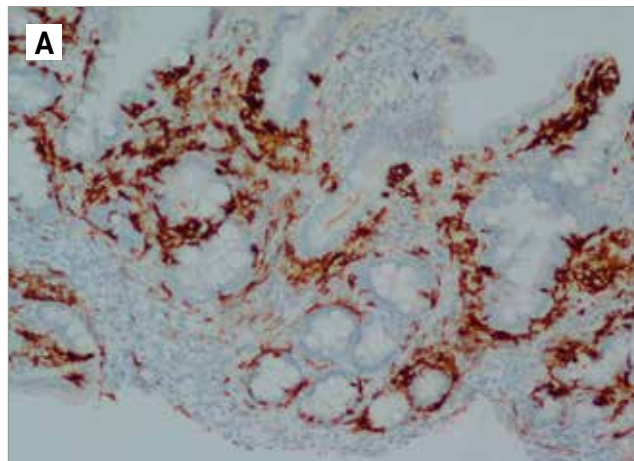
Микропрепарат стенки тонкой кишки

А – иммуногистохимическая реакция с антителами к CD1α, позитивная реакция в гистиоцитах, которые расположены в собственной пластинке оболочки и эпителии кишечника; Б – иммуногистохимическая реакция с антителами к S100, позитивная реакция в гистиоцитах, которые расположены в собственной пластинке оболочки и эпителии кишечника

Figure 5

A slide of the small intestine wall

А – immunohistochemical reaction with antibodies to CD1α, a positive reaction in the histiocytes, which are located in the lamina propria and intestinal epithelium; Б – immunohistochemical reaction with antibodies to S100, a positive reaction in the histiocytes, which are located in the lamina propria and intestinal epithelium



покровы бледные, умеренно влажные, чистые. Температура в пределах нормальных значений. Очаговой и менингеальной симптоматики на момент осмотра нет. Самостоятельное дыхание адекватное, выслушивается по всем легочным полям, дыхание атмосферным воздухом, SpO_2 98–99%, частота дыхательных движений 22–26/мин. Тоны сердца приглушены, ритмичные, шумы не выслушиваются, частота сердечных сокращений 147–142 уд/мин, артериальное давление 81–95/54–61 мм рт. ст. Живот умеренно вздут, недоступен глубокой пальпации, печень + 5 см, селезенка + 3–4 см. Диурез адекватный, моча светлая. Кожа в области установки центрального венозного катетера без особенностей, признаков воспаления нет. По данным кислотно-щелочного состояния: pH 7,428, калий 3,4 ммоль/л, натрий 136 ммоль/л, BE –2,7 ммоль/л. По данным общего анализа крови: гемоглобин 82 г/л, эритроциты $3,14 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты $4,85 \times 10^9$ /л нейтрофилы $0,79 \times 10^9$ /л, тромбоциты 101×10^9 /л.

На основании проведенного дообследования выставлен диагноз: ГКЛ с мультисистемным поражением кожи, кишечника, нижних костей конечностей, органов риска (печень, селезенка, костный мозг), BRAF-позитивный.

В соответствии с протоколом LCH-BRAF инициированы курс вемурафениба и 3 блока химиотерапии цитозар + кладрибин, противовирусная, антибактериальная, противогрибковая, сопроводительная терапия, профилактика пневмоцистной пневмонии, гемотрансфузии.

На фоне терапии отмечалась значительная положительная динамика, клинические признаки энтеропатии нивелировались, аппетит нормализовался, ребенок стал более активным, возобновились попытки обучения навыку ходьбы, сократились размеры печени и селезенки. По данным клинического анализа крови купированы анемия и тромбоцитопения, по данным биохимического анализа крови восстановились показатели концентрации общего белка и альбумина до нормальных значений, в связи с чем отеки полностью регрессировали.

При динамическом наблюдении в течение 3 лет на фоне проведенной терапии отмечается благоприятный исход мультисистемной формы ГКЛ в виде стойкой ремиссии заболевания, восстановления всех функций организма и качества жизни ребенка.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Описание поражения ЖКТ у детей с ГКЛ представлено в литературе, начиная с 1973 г., и к настоящему времени насчитывает более 40 случаев, среди которых по половому составу, как и в нашем случае, преобладают девочки [22].

По различным данным, частота вовлечения органов гастроинтестинальной системы является достаточно редкой и варьирует от 1 до 5% с наибольшей встречаемостью (до 75%) у пациентов в возрасте менее 1 года и, по данным ретроспективного исследования Yoon и соавт., ассоциирован с 4-кратным увеличением риска вовлечения органов-мишеней, что коррелирует с возрастающей смертностью [27]. По данным публикации 2010 г., до 53% пациентов с вовлечением ЖКТ при ГКЛ погибают в течение 18 мес от момента постановки диагноза, что характеризует неблагоприятный прогноз [21].

Симптомы поражения ЖКТ при ГКЛ неспецифичны, вариабельны и включают в себя рвоту, абдоминальную боль, диарею, мальабсорбцию, гемоколит, протеинтерияющую энтеропатию, запоры и даже кишечную перфорацию [18–22].

ЭЭ характеризуется гипопроотеинемией, связанной с повышенной потерей белка через ЖКТ, она может быть вызвана широким спектром заболеваний, среди которых выделяют 2 основные группы причин, связанные с лимфатической обструкцией и воспалением слизистой оболочки гастроинтестинальной системы. Дифференциальная диагностика причин потери белка представляет определенные сложности для клинициста. У детей раннего возраста среди этиологических факторов ЭЭ наиболее часто исключаются пищевая аллергия, в первую очередь к белкам коровьего молока, острые гастроэнтериты, целиакия, синдром раздраженного кишечника, воспалительные заболевания кишечника, аутоиммунная энтеропатия, иммунодефицитные синдромы и наследственная патология. Диагностика пищевой аллергии не сопряжена с проведением биопсии и при назначении диеты происходит полное купирование симптомов. Наличие рефрактерной кишечной симптоматики, к сожалению, не предусматривает в большинстве случаев включение в диагностический алгоритм ГКЛ как причины ЭЭ, что может быть связано с недостаточной осведомленностью специалистов и редкостью вовлечения ЖКТ. Однако протеинтерияющая энтеропатия при поражении гастроинтестинальной системы у пациентов с ГКЛ встречается с частотой до 77% и предопределяет неблагоприятный исход [1, 4–6].

Эндоскопическое исследование с проведением биопсии из различных отделов ЖКТ является крайне важным для диагностики и обеспечивает высокую частоту обнаружения гистиоцитов. По данным литературы, эндоскопические изменения при ГКЛ варьируют от нормальной слизистой, неспецифической эритемы до узелковых поражений, поверхностных эрозий и геморрагических язвенных дефектов. Наиболее часто вовлекаемые отделы ЖКТ включают 12-перстную и толстую кишку [20–22].

Нами представлен редкий клинический случай дебюта ГКЛ с протеинтерющей энтеропатией с описанием современных стандартов диагностики и оказания медицинской помощи детям с такой симптоматикой.

Наша пациентка исходно велась с такими диагнозами, как аллергический колит, целиакия, воспалительное заболевание кишечника. Ребенку были инициированы диетотерапия, назначение преднизолона – без эффекта. Следует отметить, что до назначения иммуносупрессивной терапии при неэффективности диетотерапии крайне важно проведение эндоскопического исследования для исключения, в частности, вовлечения ЖКТ при ГКЛ.

Клинические проявления ГКЛ многообразны, что с учетом распространенности заболевания вызывает трудности диагностики состояния и в нашем случае требовало комплексного лабораторного (которое выявило признаки цитопении, гипопроteinемии, электролитных нарушений, гемофагоцитоза) и инструментального (УЗИ, КТ ОБП и органов грудной клетки, эндоскопические методы, пункция костного мозга, рентгенография костей) обследования. Неспецифичность симптомов предопределила проведение дополнительных обследований для исключения редких, в том числе наследственных, причин энтеропатии в виде исключения абетаполипротеинемии, нарушения гликозилирования, тип 1b.

С 1977 г. определение концентрации альфа-1-антитрипсина в кале является надежным и простым способом идентификации потери белка через ЖКТ. У нашей пациентки повышение маркера в кале позволило подтвердить, что поражение гастроинтестинальной системы является причиной гипопроteinемии [1–3].

По данным литературы, за период с 1973 по 2019 г. описаны 22 пациента (из них 13 девочек) с дебютом ГКЛ в виде протеинтерющей энтеропатии. Диагностика была проведена, начиная с периода новорожденности до возраста 24 месяцев. Клиническая симптоматика в большинстве случаев, как и у нашей пациентки, сопровождалась себорееподобной и геморрагической сыпью, диареей с гемоколитом, отеками, задержкой развития, эпизодами лихорадки. При динамическом наблюдении в течение 2 лет с момента постановки диагноза летальный исход был у 50% пациентов. У 12 больных, как и в случае нашей пациентки, с учетом мультисистемного поражения удалось добиться длительной ремиссии на фоне терапии, преимущественно представленной сочетанием винбластин и стероидов [22].

Вовлечение ЖКТ у детей раннего возраста в 86% случаев сочетается с поражением кожи. По данным ретроспективного когортного исследования F.L. Ren и соавт., при оценке течения ГКЛ у 43 детей отме-

чались различные кожные проявления, включающие папулы и узелки, гипопигментные пятна, петехии, эритемы и папуловезикулы. Заушная геморрагическая сыпь, как в случае с нашей пациенткой, была выявлена только в 1 случае [28].

Диагноз ГКЛ устанавливается на основании клинической картины, лабораторных изменений и гистологического исследования биопсии пораженной ткани. Наиболее точным исследованием считается позитивная иммуногистохимическая реакция с антителами CD1α, S100 и/или CD207 в пораженных клетках [10, 16]. Основную роль в диагностике заболевания и постановке окончательного диагноза у ребенка в нашем случае сыграло проведение гистологического исследования биоптата кожи и тонкой кишки, в результате которого были исключены такие патологии, как целиакия, первичная лимфангиэктазия, воспалительные и инфекционные заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, болезнь Уиппла), аутоиммунная энтеропатия и болезнь включенных ворсин.

Пациенты с мультисистемной формой заболевания требуют особого внимания при выборе тактики ведения, так как данная группа больных менее чувствительна к терапии и требует более агрессивного лечения [10, 16, 24].

В Российской Федерации, по данным клинических рекомендаций по диагностике и лечению ГКЛ у детей от 2014 г., основными препаратами являются винбластин, преднизолон, 6-меркаптопурин. При отсутствии эффекта через 6 нед от начала терапии 1-й линии назначается комбинированная химиотерапия препаратами 2-й линии, к которым относятся 2-хлордезоксиденозин и цитарабин, с последующей возможной аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток [29].

До недавнего времени вышеуказанные схемы были единственным вариантом лечения детей с гистиоцитозом, однако сейчас разработана таргетная терапия вемурафенибом, который представляет собой ингибитор BRAF (гомолог вирусного онкогена мышины саркомы v-RAF B). Первоначально препарат был лицензирован для лечения метастатической меланомы, однако к настоящему времени проведены исследования по использованию вемурафениба у детей с тяжелыми мультисистемными, BRAF-положительными формами ГКЛ, препарат применяется у детей согласно протоколу LCH-BRAF [30–32].

В клиническом случае H. Wang и соавт. представлено успешное применение у 5-месячной девочки с мультисистемным течением ГКЛ и вовлечением ЖКТ другого ингибитора BRAF-киназы – препарата дабрафениб, который также рекомендован для лечения тяжелых и рефрактерных форм заболевания [23].

В современные медицинские стандарты диагностики и определения тактики лечения ГКЛ входит проведение генетического исследования на выявление мутации V600E в гене *BRAF*, которая обнаруживается у 60% пациентов [31, 32].

Молекулярно-генетическое исследование, проведенное нашей пациентке в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, позволило выявить характерную мутацию и назначить терапию согласно протоколу LCH-BRAF, на фоне проведения которой была достигнута стойкая ремиссия с купированием патологической симптоматики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, несмотря на редкую встречаемость в педиатрической практике, ЭЭ является тяжелым жизнеугрожающим состоянием за счет развития отеков, гипоальбуминемии, стеатореи, лимфопении, гипогаммаглобулинемии, асцита, дефицита жирорастворимых витаминов и требует широкого диагностического обследования, необходимого для верификации состояний, послуживших причиной ее возникновения. Дифференциально-диагностический поиск необходимо осуществлять не только в рамках часто встречаемых патологий, но и среди редких заболеваний, при которых поражение ЖКТ не является превалирующим.

Вовлечение ЖКТ в виде протеинтеряющей энтеропатии является крайне редким проявлением ГКЛ и встречается преимущественно у девочек в возрасте до 1 года, предопределяя высокий риск вовлечения органов-мишеней и мультисистемных форм с повышением частоты смертности и неблагоприятного исхода.

Неспецифичность клинической симптоматики, рефрактерность и тяжесть течения экссудативной терапии требуют обязательного проведения эндоскопического исследования верхних и нижних отделов ЖКТ с взятием биопсии и последующим проведением

иммуногистохимических реакций с антителами CD1α и S100.

Выявление атопических и геморрагических изменений кожи в сочетании с тяжелой кишечной симптоматикой требует проведения диагностической биопсии кожи.

Молекулярно-генетическое исследование гена *BRAF* и выявление мутаций открывают новые возможности для успешного лечения рефрактерных и мультисистемных форм ГКЛ с применением ингибиторов BRAF-киназ.

Редкость представленного клинического случая доказывает необходимость дополнительной настороженности со стороны врачей – педиатров, гастроэнтерологов, гематологов и дерматологов у больного с признаками нарушения кишечного всасывания даже при отсутствии типичного клинического течения ГКЛ.

Проведение комплексного обследования с использованием специфических и высокотехнологических методов исследования позволяет своевременно установить диагноз, назначить адекватное лечение и тем самым повлиять на течение и исход заболевания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Movsisyan G.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2881-4703>

Komarova A.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9064-6443>

Kulikov K.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1107-8693>

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

Roslavtseva E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3993-1246>

Lokhmatov M.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8305-7592>

Oldakovskiy V.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8805-8164>

Tepaev R.F. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6667-9472>

Potapov A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4905-2373>

Materikin A.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6034-8231>

Savostyanov K.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4885-4171>

Литература

1. Камалова А.А., Низамова Р.А., Хадиева Г.М., Зайнетдинова М.Ш. Экссудативная энтеропатия у детей: причины, диагностика и терапия. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2017; 62 (5): 203–9. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-5-203-209
2. Горленко Л.В., Янкина Г.Н., Давыдова Т.В., Вторушин С.В., Лошкова Е.В., Кондратьева Е.И. и др. Экссудативная энтеропатия у ребенка первого года жизни. Педиатрия 2017; 96 (6): 176–82. DOI: 10.24110/0031-403X-2017-96-6-176-182
3. Craven M.D., Washabau R.J. Comparative pathophysiology and management of protein-losing enteropathy. J Vet Intern Med 2019; 33 (2): 383–402. DOI: 10.1111/jvim.15406
4. Elli L., Topa M., Rimondi A. Protein-losing enteropathy. Curr Opin Gastroenterol 2020; 36 (3): 238–44. DOI: 10.1097/MOG.0000000000000629
5. Santos-Machado T.M., Cristo'fani L.M., Almeida M.T., Maluf P.T., Costa P.A., Pereira M.A., et al. Disseminated Langerhans' cell histiocytosis and massive protein-losing enteropa-

- thy. *Braz J Med Biol Res* 1999; 32 (9): 1095–9. DOI: 10.1590/s0100-879x1999000900007
6. Shima H., Takahashi T., Shimada H. Protein-Losing Enteropathy Caused by Gastrointestinal Tract-Involved Langerhans Cell Histiocytosis. *Pediatrics* 2010; 125 (2): e426–32. DOI: 10.1542/peds.2009-1742
 7. Haupt R., Minkov M., Astigarraga I., Schäfer E., Nanduri V., Jubran R., et al. Langerhans Cell Histiocytosis (LCH): Guidelines for Diagnosis, Clinical Work-Up, and Treatment for Patients Till the Age of 18 Years. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60 (2): 175–84. DOI: 10.1002/pbc.24367
 8. Krooks J., Minkov M., Weatherall A. Langerhans cell histiocytosis in children: History, classification, pathobiology, clinical manifestations, and prognosis. *J Am Acad Dermatol* 2018; 78 (6): 1035–44. DOI: 10.1016/j.jaad.2017.05.059
 9. Allen C.E., Merad M., McClain K.L. Langerhans-Cell Histiocytosis. *N Engl J Med* 2018; 379 (9): 856–68. DOI: 10.1056/NEJMra1607548
 10. Jordan M.B., Allen C.E., Greenberg J., Henry M., Hermiston M.L., Kumar A., et al. Challenges in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis: Recommendations from the North American Consortium for Histiocytosis (NACHO). *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66 (11): e27929. DOI: 10.1002/pbc.27929
 11. Guyot-Goubin A., Donadieu J., Barkaoui M., Bellec S., Thomas C., Clavel J. Descriptive epidemiology of childhood Langerhans cell histiocytosis in France. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 51 (1): 71–5. DOI: 10.1002/pbc.21498
 12. Salotti J.A., Nanduri V., Pearce M.S., Parker L., Lynn R., Windebank K.P. Incidence and clinical features of Langerhans cell histiocytosis in the UK and Ireland. *Arch Dis Child* 2009; 94 (5): 376–80. DOI: 10.1136/adc.2008.144527
 13. Dhar S., Srinivas S.M., Dhar S., Basu S., Banerjee R., Malakar R., et al. Langerhans cell histiocytosis in children: A retrospective case series of 126 cases. *Pediatr Dermatol* 2020; 37 (6): 1085–9. DOI: 10.1111/pde.14389
 14. Jezierska M., Stefanowicz J., Romanowicz G., Kosiak W., Lange M. Langerhans cell histiocytosis in children – a disease with many faces. Recent advances in pathogenesis, diagnostic examinations and treatment. *Postepy Dermatol Alergol* 2018; 35 (1): 6–17. DOI: 10.5114/pdia.2017.67095
 15. Leung A.K.C., Lam J.M., Leong K.F. Childhood Langerhans cell histiocytosis: a disease with many faces. *World J Pediatr* 2019; 15 (6): 536–45. DOI: 10.1007/s12519-019-00304-9
 16. Rodriguez-Galindo C., Allen C.E. Langerhans cell histiocytosis Carlos Rodriguez-Galin. *Blood* 2020; 135 (16): 1319–31. DOI: 10.1182/blood.2019000934
 17. Gargan M.-L., Wong J.L., Leidhin C.N. Langerhans cell histiocytosis in children under 12 months of age: The spectrum of imaging and clinical findings: Experience in an Irish tertiary referral centre. *Eur J Radiol* 2021; 134: 109375. DOI: 10.1016/j.ejrad.2020.109375
 18. Egeler R.M., Schipper M.E.I., Heymans H.S.A. Gastrointestinal involvement in Langerhans' cell histiocytosis (histiocytosis X): a clinical report of three cases. *Eur J Pediatr* 1990; 149 (5): 325–9.
 19. Hait E., Liang M., Degar B., Glickman J., Fox V.L. Gastrointestinal tract involvement in Langerhans cell histiocytosis: case report and literature review. *Pediatrics* 2006; 118 (5): e1593–9. DOI: 10.1542/peds.2006-0708
 20. Singhi A.D., Montgomery E.A. Gastrointestinal Tract Langerhans Cell Histiocytosis: A Clinicopathologic Study of 12 Patients. *Am J Surg Pathol* 2011; 35 (2): 305–10. DOI: 10.1097/PAS.0b013e31820654e4
 21. Yadav S.P., Kharya G., Mohan N., Sehgal A., Bhat S., Jain S., et al. Langerhans cell histiocytosis with digestive tract involvement. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 55 (4): 748–53. DOI: 10.1002/pbc.22663
 22. Gotesman M., Getachew R., Morales S., Zangwill K.M., Gershman G., Lee S., et al. A Case of Langerhans Cell Histiocytosis With Multifocal, Single-System GI Tract Involvement and Literature Review. *J Pediatr Hematol Oncol* 2020; 42 (6): e491–3. DOI: 10.1097/MPH.0000000000001662
 23. Wang H., Wang Y., Wang R., Li X. Case Report: Two Infant Cases of Langerhans Cell Histiocytosis Involving the Digestive Tract. *Front Pediatr* 2021; 9: 545771. DOI: 10.3389/fped.2021.545771
 24. Minkov M. Multisystem Langerhans cell histiocytosis in children: current treatment and future directions. *Paediatr Drugs* 2011; 13: 75–86. DOI: 10.2165/11538540-000000000-00000
 25. Minkov M., Pötschger U., Thacker N., Astigarraga I., Braier J., Donadieu J., et al. Additive Prognostic Impact of Gastrointestinal Involvement in Severe Multisystem Langerhans Cell Histiocytosis. *J Pediatr* 2021; 237: 65–70.e3. DOI: 10.1016/j.jpeds.2021.06.016
 26. Aricò M. Langerhans cell histiocytosis in children: from the bench to bedside for an updated therapy. *Br J Haematol* 2016; 173 (5): 663–70. DOI: 10.1111/bjh.13955
 27. Yoon H.S., Lee J.H., Michlitsch J., Garcia-Carega M., Jeng M. Langerhans Cell Histiocytosis of the Gastrointestinal Tract: Evidence for Risk Organ Status. *J Pediatr* 2019; 212: 66–72.e3. DOI: 10.1016/j.jpeds.2019.05.003
 28. Ren F.L., Skipper D.C., Elbendary A., Tan Q., Elston D.M. Cutaneous manifestations of Langerhans cell histiocytosis in children: a retrospective cohort study of 43 patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2020; 34 (10): e640–2. DOI: 10.1111/jdv.16509
 29. Румянцев А.Г., Масчан М.А. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению гистиоцитоза из клеток Лангерганса. М.; 2014. 17 с.
 30. Mayumi A., Imamura T., Sakamoto K., Ota T., Osone S., Usami I., et al. Successful treatment with 2-chlorodeoxyadenosine of refractory pediatric Langerhans cell histiocytosis with initial involvement of the gastrointestinal tract. *Int J Hematol* 2019; 110 (6): 756–62. DOI: 10.1007/s12185-019-02711-0
 31. 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
 32. 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

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 21.11.2022
Принята к печати 29.12.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-122-125

Резистентность к терапии BRAF-ингибиторами у пациента с *BRAF V600E*-позитивным гистиоцитозом из клеток Лангерганса

Э.И. Людовских, Д.А. Евсеев, Д.С. Осипова, Е.В. Райкина, И.И. Калинина,
Д.Д. Байдильдина, А.А. Масчан, М.А. Масчан

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

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

В статье представлен клинический случай применения траметиниба в составе комбинированной терапии *BRAF*-позитивного гистиоцитоза из клеток Лангерганса. На фоне длительной терапии *BRAF*-ингибитором у пациента произошла реактивация основного заболевания. На основании этого было выдвинуто предположение о формировании резистентности к терапии путем возникновения субклональной мутации. Был сделан вывод, что данное событие ставит под вопрос эффективность длительной терапии *BRAF*-ингибиторами и подчеркивает необходимость дальнейшего изучения возможных молекулярно-генетических механизмов патогенеза гистиоцитоза из клеток Лангерганса, а также разработки новых подходов к терапии. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: гистиоцитоз из клеток Лангерганса, *BRAF V600E*, *BRAF*-ингибиторы, *MEK*-ингибиторы, дети

Людовских Э.И. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 122–5. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-122-125

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 21.11.2022
Accepted 29.12.2022

Resistance to *BRAF* inhibitors in a patient with *BRAF V600E*-positive Langerhans cell histiocytosis

E.I. Lyudovskikh, D.A. Evseev, D.S. Osipova, E.V. Raykina, I.I. Kalinina, D.D. Baidildina, A.A. Maschan,
M.A. Maschan

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

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 a clinical case of a patient with *BRAF*-positive Langerhans cell histiocytosis treated with combination therapy including trametinib. As the patient was undergoing long-term therapy with a *BRAF* inhibitor, his underlying disease reactivated. Hence it was suggested that the child might have become resistant to the treatment as a result of a subclonal mutation. It was concluded that this event undermined the efficacy of long-term therapy with *BRAF* inhibitors and highlighted the need for further study of possible molecular genetic mechanisms involved in the pathogenesis of Langerhans cell histiocytosis, as well as the need for the development of new treatment approaches. The patient's parents gave consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: Langerhans cell histiocytosis, *BRAF V600E*, *BRAF* inhibitors, *MEK* inhibitors, children

Lyudovskikh E.I., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 122–5.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-122-125

Гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ) – заболевание, которое характеризуется аномальной пролиферацией и накоплением в органах и тканях клеток, фенотипически схожих с обычными клетками Лангерганса. Таким образом, это может приводить к избыточному разрастанию, локальному повреждению и нарушению функции пораженных органов [1].

Клетки Лангерганса – представители дендритных клеток, которые имеют моноцитарно-макрофагальное происхождение и выполняют в организме антигенпрезентирующую функцию [2]. Главным звеном патогенеза является клональная пролиферация патологических клеток Лангерганса и последую-

ющая дисрегуляция взаимодействия клеток иммунной системы в очагах поражения. В патологический процесс могут вовлекаться различные органы и ткани, а клиническое течение разнообразно и зависит от системности заболевания.

ГКЛ встречается, по разным оценкам, приблизительно с частотой 3–10 случаев на 1 000 000 детского населения в год [3]. Соотношение мальчиков и девочек составляет 2:1. Частота развития ГКЛ у новорожденных составляет 1–2 случая на 1 000 000 [4]. Пик заболеваемости и средний возраст постановки диагноза составляет 3,5 года [1, 4].

Согласно опубликованным данным, примерно у 60% пациентов с ГКЛ обнаружена мутация *BRAF*

V600E, приводящая к активации киназного пути RAS–RAF–MEK–ERK–MAP. Современные протоколы лечения, основанные на комплексном применении химиопрепаратов, обеспечивают выживаемость до 98% [5, 6], но обладают высокой токсичностью, а также достаточно продолжительным ответом на лечение. Для части пациентов существует возможность применения таргетной терапии.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Ребенок рожден от 1-й беременности, 1-х родов. На фоне слабости родовой деятельности было проведено родоразрешение путем экстренного кесарева сечения. Вес при рождении 3680 г, рост – 54 см. Аллергоанамнез и наследственность не отягощены. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Дебют заболевания произошел в возрасте 2 лет, когда на спине у ребенка появились пустулезно-геморрагические элементы, петехиальная сыпь, а также гепатоспленомегалия.

Учитывая данные симптомы, ребенок был госпитализирован в стационар по месту жительства. При инициальной диагностике в миелограмме выявлены гипоклеточный костный мозг и единичная гемофагия.

Впоследствии в миелограмме выявлены гемофаги в большом количестве. В гемограмме – анемия тяжелой степени, тромбоцитопения.

Для дообследования и начала специфической терапии ребенок был госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, где установлен диагноз: ГКЛ, мультисистемная форма с поражением кожи, органов риска (печень, селезенка, костный мозг).

Пациенту начата терапия по научно-исследовательскому протоколу NCT03585686 «Открытое исследование эффективности и безопасности применения вемурафениба в сочетании с комбинированной терапией цитарабином/2-хлордезоксиденозином у пациентов с ГКЛ с наличием мутации V600E в гене *BRAF*» [6], инициирован курс терапии вемурафенибом без верификации мутации (письменное информированное согласие мамы получено) ввиду тяжести состояния ребенка при поступлении, а также высоких рисков осложнений.

На фоне проводимой специфической терапии отмечалась выраженная положительная динамика в виде сокращения размеров печени, селезенки, разрешения пятнисто-папулезной сыпи.

В то же время пациенту было проведено молекулярно-генетическое исследование биоптата кожи методом мутационно-специфической полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с последующим секвенированием по Сэнгеру, по

результатам которого была обнаружена мутация V600E в гене *BRAF*.

Учитывая положительную динамику клинической картины, верификацию мутации в гене *BRAF*, а также хорошую переносимость препарата, была продолжена терапия в рамках протокола.

Согласно протоколу ребенку был проведен мониторинг аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E. По результатам исследования аллельная нагрузка мутации определялась в свободно циркулирующей ДНК (сцДНК) и популяции миелоидных предшественников (CD34⁺CD117⁺) инициально, а также в каждой последующей контрольной точке.

Окончив специфическую терапию по протоколу, пациент выписан под наблюдение по месту жительства в стабильном соматическом статусе.

Очередная госпитализация в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева была проведена в целях контроля статуса основного заболевания. Учитывая снижение показателей крови, а также сохранение специфической сыпи и аллельной нагрузки мутации (рисунки 1), состояние ребенка трактовано как рефрактерное течение заболевания. Принято решение о возобновлении терапии вемурафенибом в дозе 240 мг/сут перорально, на фоне которой отмечалось нивелирование всех симптомов, и пациент был выписан под наблюдение по месту жительства.

Спустя 1 год у ребенка появились неспецифические симптомы: пятнисто-папулезная сыпь в естественных складках, кризы с повышением температуры до фебрильных цифр, гепатоспленомегалия (рисунки 2) и трехростковая цитопения.

На фоне приема глюкокортикостероидов по месту жительства соматический статус стабилизировался, отмечались уменьшение печени и селезенки, нивелирование сыпи. В целях определения дальнейшей тактики терапии пациент в очередной раз был госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Рисунок 1

Мониторинг аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E методом цифровой капельной полимеразной цепной реакции в свободно циркулирующей ДНК в 6 контрольных точках согласно протоколу. Синие точки отражают наличие амплификации мутантного аллеля

Figure 1
BRAF V600E allele load monitoring in circulating free DNA using droplet digital polymerase chain reaction at 6 time points as defined in the protocol. The blue dots indicate mutant allele amplification

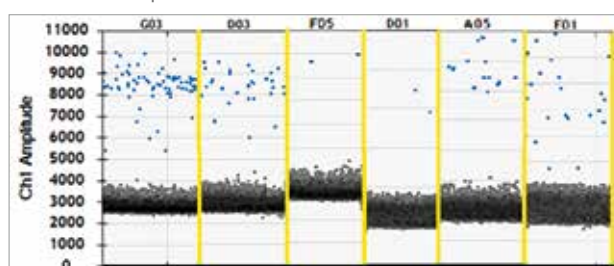
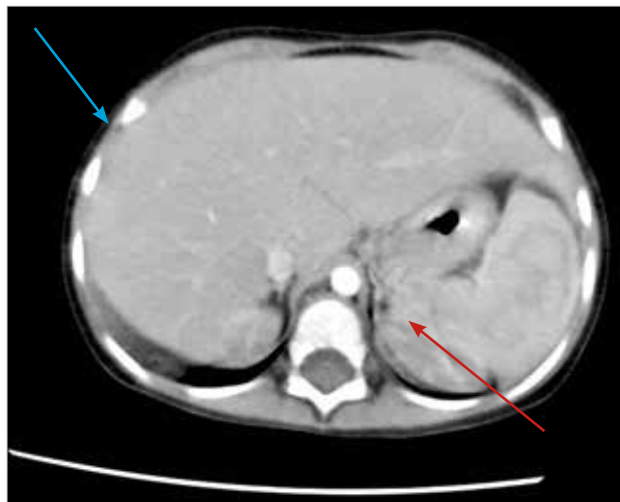


Рисунок 2

Мультиспиральная компьютерная томография органов брюшной полости с контрастным усилением. Исследование при возможной реактивации заболевания. Синей стрелкой обозначена гепатомегалия, красной стрелкой – спленомегалия

Figure 2

Contrast-enhanced multispiral computed tomography of the abdominal cavity. The computed tomography was performed because of suspected disease reactivation. The blue arrow indicates hepatomegaly, the red arrow – splenomegaly



Отмечено нарастание симптомов реактивации основного заболевания в виде увеличения печени и селезенки, появления пустулезных и инфильтративных элементов по всему телу, фебрильной лихорадки.

Таким образом, учитывая результаты проведенного дообследования и наличие анамнестически сходного процесса наряду с лихорадкой неясного генеза, гепатоспленомегалией, а также элевацией воспалительных маркеров на фоне проводимой терапии BRAF-ингибитором (вемурафениб), наиболее вероятной причиной возникновения данного процесса могло стать появление субклональной мутации, что привело к невозможности контроля заболевания данным препаратом.

На основании этого было принято решение о начале специфической терапии MEK-ингибитором (траметиниб 0,5 мг/сут перорально). На 2-е сутки приема BRAF- и MEK-ингибиторов отмечалась положительная динамика в виде уменьшения размеров печени и селезенки, афебрилитета и полного восстановления гемопоэза. Проявлений какой-либо токсичности препаратов не выявлено.

Таким образом, на фоне терапии BRAF- и MEK-ингибиторами отмечалось клинико-гематологическое улучшение. Пациент был выписан по месту жительства в стабильном соматическом статусе. Через 2 мес было проведено контрольное обследование, по результатам которого пациент по-прежнему находился в клинико-гематологической ремиссии.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Учитывая разные формы и множество проявлений ГКЛ, его терапия не может быть универсальной. На данный момент стандартом лечения является протокол Международного гистиоцитарного сообщества (HS) LCH-IV [7]. Согласно протоколу пациентам групп промежуточного и высокого риска показана системная полихимиотерапия.

В НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева разработан научно-исследовательский протокол [8], согласно которому пациенты с подтвержденной мутацией *BRAF* V600E получают таргетную терапию BRAF-ингибитором в сочетании с комбинированной полихимиотерапией (низкие дозы цитарабина и кладрибина).

За период наблюдения у пациента констатировано рефрактерное течение заболевания в связи с появлением симптомов реактивации на фоне терапии цитозаром и кладрибином. С учетом этого было принято решение о возобновлении терапии вемурафенибом, в результате чего был достигнут полный ответ.

В данном случае у пациента на фоне терапии вемурафенибом в монорежиме в первые месяцы отмечался полный ответ в виде регресса всех симптомов основного заболевания.

В течение нескольких месяцев сохранялся ответ на терапию, однако через год на фоне применения вемурафениба появились признаки реактивации заболевания в виде снижения показателей гемопоэза, появления пустулезных элементов на коже по всему телу, увеличения объема живота за счет гепатоспленомегалии, а также лихорадки неясного генеза.

В целях выяснения генеза вышеописанного симптомокомплекса был исключен инфекционный генез заболевания. Принимая во внимание схожие симптомы в самом дебюте заболевания, сохранение мутации *BRAF* V600E в сДНК и популяции миелоидных предшественников, а также адекватную концентрацию вемурафениба, было выдвинуто предположение о формировании резистентности к терапии BRAF-ингибиторами путем возникновения субклональной мутации в патологических клетках Лангерганса. Таким образом, было принято решение о комбинировании таргетной терапии путем добавления траметиниба. На 5-е сутки отмечался полный регресс симптомов.

Так как при инициальном исследовании была выявлена характерная для ГКЛ мутация *BRAF* V600E, поиск дополнительных мутаций не проводили. Поиск субклональной мутации диагностически затруднен в связи с отсутствием субстратов на периферии (кожа) и крайне низким содержанием патологических клеток в костном мозге.

Эффективность добавления к прежней терапии MEK-ингибитора (быстрый регресс всех имеющихся

симптомов) однозначно свидетельствует о наличии дополнительного события в патологических клетках и формировании субклонального события.

Патологические гистиоциты сохраняли мутацию *BRAF* V600E, что, вероятно, позволяло контролировать течение заболевания на фоне терапии вемурафенибом. При анализе зарубежной литературы отмечено только одно сообщение [9] о клиническом случае ребенка, у которого на фоне длительной терапии дабрафенибом при лечении *BRAF* V600E-позитивного ГКЛ развился острый миелоидный лейкоз. В качестве молекулярно-генетического исследования было проведено высокопроизводительное секвенирование, которое выявило моноклонию 7, *BRAF* V600E, *NRAS*-, *KRAS*- и *EZH2*-мутации в костном мозге. Дополнительные соматические мутации неясного значения были идентифицированы как в образцах ГКЛ, так и в образцах острого миелоидного лейкоза. Это натолкнуло на теорию о возможной потенциальной злокачественной трансформации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный клинический случай позволяет усомниться в эффективности долгосрочного приема ингибиторов пути МАРК у пациентов с ГКЛ и демонстрирует необходимость дополнительных исследований для изучения новых возможностей терапии.

Понимание патогенетических особенностей киназного пути МАРК может помочь как исследователям, так и практикующим врачам в разработке новых подходов к использованию различных комбинаций препаратов, например, как в описанном случае, совместного применения *BRAF*- и *MEK*-ингибиторов.

В настоящее время в литературе начали появляться сообщения о прогрессии или трансформации ГКЛ на длительной терапии *BRAF*-ингибиторами [10], что ранее считалось невозможным, например, в отличие от меланомы, при которой известно, что медиана наблюдения до формирования резистентности к *BRAF*-ингибиторам составляет 1 год [9]. Наиболее частыми вторыми событиями являются мутации пути *RAS*–*RAF*–*MEK*–*ERK*, некоторые из которых как раз могут быть заблокированы путем применения *MEK*-ингибиторов. Но если метастатическая форма меланомы – высокозлокачественное заболевание с высоким индексом пролиферации, то ГКЛ не обладает подобными свойствами. Вероятно, в связи с этим практически отсутствуют сообщения о формировании дополнительных мутаций, способных обусловить резистентность к *BRAF*-ингибиторам, что подчеркивает важность данного клинического случая.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

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

КОНФИКТ 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>

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

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

Литература

1. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению гистиоцитоза из клеток Лангерганса. М.; 2014.
2. Lipscomb M.F., Masten B.J. Dendritic Cells: Immune Regulators in Health and Disease. *Physiol Rev* 2002; 82: 97–130.
3. Stålemark H., Laurencikas E., Karis J., Gavhed D., Fadeel B., Henter J.-I. Incidence of Langerhans cell histiocytosis in children: A population-based study. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 51 (1): 76–81.
4. Minkov M., Prosch H., Steiner M., Grois N., Pötschger U., Kaatsch P., et al. Langerhans cell histiocytosis in neonates. *Pediatr. Blood Cancer* 2005; 45 (6): 802–7. DOI: 10.1002/pbc.20362
5. Donadieu J., Héritier S. Histiocytose langerhansienne de l'enfant. *Presse Med* 2017; 46 (1): 85–95.
6. Berres M., Lim K.P.H., Peters T., Price J., Takizawa H., Salmon H., et al. *BRAF*-V600E expression in precursor versus differentiated dendritic cells defines clinically distinct LCH risk groups. *J Exp Med* 2014; 211 (4): 669–83. DOI: 10.1084/jem.20130977
7. LCH-IV, International Collaborative Treatment Protocol for Children and Adolescents With Langerhans Cell Histiocytosis – Full Text View – ClinicalTrials.gov [Electronic resource]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02205762> (accessed 26.10.2022).
8. Проспективное нерандомизированное клиническое испытание фазы II вемурафениба в комбинации с цитарабином и 2-хлордезоксиденозином у детей с гистиоцитозом клеток Лангерганса с мутацией *BRAF* V600E [Электронный ресурс]. URL: <https://ichgcp.net/ru/clinical-trials-registry/NCT03585686> (дата обращения 26.10.2022).
9. Salek M., Oak N., Hines M., 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
10. Proietti I., Skroza N., Bernardini N., Tolino E., Balduzzi V., Marchesello A., et al. Mechanisms of Acquired *BRAF* Inhibitor Resistance in Melanoma: A Systematic Review. *Cancers (Basel)* 2020; 12 (10): 2801.

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 20.10.2022
Принята к печати 13.12.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-126-138

Лейкоз из тучных клеток: демонстрация клинического случая лейкоза из тучных клеток у ребенка и обзор литературы

Э.Г. Бойченко

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

Контактная информация:

Бойченко Эльмира Госмановна,
д-р мед. наук, заведующая отделением
онкогематологии
СПб ГБУЗ «Детский городской
многопрофильный клинический
специализированный центр высоких
медицинских технологий»,
главный внештатный детский специалист
гематолог Комитета по здравоохранению
Санкт-Петербурга
Адрес: 198205, Санкт-Петербург,
ул. Авангардная, 14А
E-mail: boychenko-elmira@yandex.ru

Лейкоз из тучных клеток (ЛТК) представляет собой редкую и чрезвычайно агрессивную форму системного мастоцитоза и составляет менее 1% в структуре заболевания. Мастоцитоз – это гетерогенная группа расстройств широкого клинического диапазона от изолированного поражения кожи до крайне тяжелого системного процесса, каким является ЛТК. Мастоцитоз может возникать на протяжении жизни: от рождения до старости. У детей, как правило, мастоцитоз является доброкачественным заболеванием с высокой вероятностью спонтанной регрессии в периоде полового созревания в отличие от взрослых, у которых эта болезнь часто носит системный и более тяжелый характер. Пациенты с системным мастоцитозом имеют высокий риск трансформации в злокачественные заболевания гемопоэза. Диагноз ЛТК требует сочетания критериев системного мастоцитоза с инфильтрацией костного мозга и внекожных сайтов с атипичными тучными клетками. За последнее десятилетие наше понимание мастоцитоза существенно улучшилось в результате установления важной роли соматической мутации *KIT*, которая играет решающую роль в патогенезе заболевания, и aberrантного иммунофенотипа атипичных тучных клеток. Для лечения ЛТК у детей не существует стандартных рекомендаций, представлены некоторые терапевтические опции. Несмотря на редкость системного мастоцитоза в детском возрасте, все дети с кожным мастоцитозом нуждаются в тщательно спланированном наблюдении. Мы представляем обзор литературы и редкий случай ЛТК, который развился у 4-летней девочки, с раннего возраста страдавшей кожным мастоцитозом. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: детский мастоцитоз, системный мастоцитоз, лейкоз из тучных клеток, *KIT*-мутация, триптаза, диагноз, лечение

Бойченко Э.Г. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 126–38.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-126-138

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 20.10.2022

Accepted 13.12.2022

A case report of mast cell leukemia in a child and literature review

E.G. Boychenko

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

Correspondence:

Elmira G. Boychenko,
Dr. Med. Sci., Head of the Department
of Oncohematology at Saint Petersburg
Children's City Multidisciplinary Clinical
Specialized Center of High Medical
Technologies, Chief Pediatric Hematologist
of Saint Petersburg Healthcare Committee
Address: 14A Avangardnaya St.,
198205 Saint-Petersburg, Russia
E-mail: boychenko-elmira@yandex.ru

Mast cell leukemia (MCL) is a very rare form of aggressive systemic mastocytosis accounting for < 1% of all mastocytosis. Mastocytosis is a broad term used for a group of clonal disorders characterized by accumulation of mast cells in the skin with or without extracutaneous involvement. The clinical spectrum of the disease varies from only cutaneous lesions to highly aggressive systemic involvement such as MCL. Mastocytosis can present from birth to adulthood. In children, mastocytosis is usually benign, and there is a good chance of spontaneous regression at puberty, unlike adult-onset disease, which is generally systemic and more severe. Individuals with systemic mastocytosis may be at risk of developing hematologic malignancies. MCL diagnosis requires the presence of SM criteria with additional features including leukemic infiltration of bone marrow and/or blood by at least 20% high-grade MC as well as the infiltration of extracutaneous organs by neoplastic MC. Genetic aberrations, mainly the *KIT* D816V mutation, play a crucial role in the pathogenesis of mastocytosis and are detected in most patients. To date, there is no approved standard therapy. For MCL, few options are available for treatment and because of the rarity of the disease very few clinical trials address the question. Even if SM occurs occasionally, all children with mastocytosis require planned follow-up over time. We present an overview of literature on MCL and a rare case of MCL diagnosed in a 4-year-old girl who had had cutaneous mastocytosis since early childhood. A bone marrow examination revealed MCL. She ultimately died despite chemotherapy. The patient's parents gave consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: pediatric mastocytosis, systemic mastocytosis, mast cell leukemia, *KIT* mutation, tryptase, diagnosis; treatment

Boychenko E.G. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 126–38.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-126-138

Лейкоз из тучных клеток (ЛТК) представляет собой очень редкую форму агрессивного системного мастоцитоза (СМ), составляя менее 1% в структуре заболевания. Мастоцитоз

является клональным миелопролиферативным заболеванием, которое характеризуется накоплением морфологически и фенотипически аномальных тучных клеток (ТК) в 1 и более органах и тканях [1, 2].

Классификация мастоцитоза Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2016 г. включает следующие категории: кожный мастоцитоз (КМ; cutaneous mastocytosis), СМ (systemic mastocytosis) и саркому из ТК [3, 4].

При КМ аккумуляция ТК преимущественно ограничивается кожей, в то время как при СМ ТК инфильтрируют разные органы, такие как костный мозг, печень, селезенка, лимфатические узлы, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), а также кожа [5–7].

Категорию СМ составляют индолентный и продвинутый СМ. Продвинутый СМ включает такие формы, как СМ с ассоциированным гематологическим злокачественным заболеванием нетучноклеточной природы, агрессивный СМ и ЛТК. При продвинутых формах СМ инфильтрация ТК приводит к органной дисфункции [1, 2].

Пациенты с КМ и СМ могут страдать, с одной стороны, от симптомов, связанных с высвобождением из ТК медиаторов. Симптомы высвобождения воспалительных медиаторов включают кожный зуд, приливы, эпизоды гипотонии, анафилаксию, боли в животе и диарею [5, 7]. С другой стороны, проявления заболевания обусловлены органной дисфункцией в результате инфильтрации пораженных органов ТК [6].

Мастоцитоз в детском возрасте характеризуется почти эксклюзивно кожным вовлечением и считается клональной экспансией доброкачественной природы, которая более чем в 80% случаев спонтанно регрессирует к периоду полового созревания. У детей очень редко встречается СМ [6–9], который является самой частой формой мастоцитоза у взрослых. Если СМ диагностируется у детей, то, как правило, это индолентный СМ [5, 7, 10]. Таким образом, в типичных случаях мастоцитоз у детей представляет собой доброкачественное заболевание. Тем не менее важно учитывать вероятность эволюции КМ в системные формы. В одном из обзоров литературы показано, что системная форма разовьется приблизительно у 1 из 100 детей с КМ [11].

ЛТК характеризуется лейкемическим распространением с множественным органным поражением вследствие того, что патологические ТК высокоагрессивны, быстро пролиферируют, инфильтрируют все органы, включая пищеварительный тракт, легко дегранулируют, высвобождая большое количество воспалительных медиаторов. Поэтому имеет место вовлечение печени, селезенки, брюшины, костей, костного мозга, центральной нервной системы и часто наблюдаются симптомы активации ТК [12, 13].

ЛТК может возникнуть как первичное (*de novo*) заболевание или как вторичное по отношению к предшествовавшему мастоцитозу. Общий риск трансформации в лейкоз при СМ у взрослых (анализ когорты

больных с СМ, $n = 342$) составляет 6% (из них 86% – в острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), в ЛТК – 13%) [14].

Клинически и биологически ЛТК имеет намного больше общих черт с СМ, чем с ОМЛ. Диагноз ЛТК требует присутствия критериев СМ с дополнительными признаками, включающими инфильтрацию костного мозга и внутренних органов атипичными ТК. Диагноз основывается на определении $\geq 20\%$ атипичных ТК в костном мозге и $\geq 10\%$ атипичных ТК в периферической крови. Тем не менее существует алейкемическая форма ЛТК, когда доля циркулирующих ТК менее 10%. При ЛТК характерный для СМ вариант мутации *KIT* D816V встречается редко, что требует проведения полного секвенирования гена *KIT* [13].

Эпидемиология

Не существует точных данных о частоте мастоцитоза у детей. Представляется, что она соответствует или даже превышает частоту мастоцитоза у взрослых, который диагностируется у 9–13 человек на 100 000 взрослого населения, что было продемонстрировано в нескольких популяционных исследованиях [15, 16]. При системном анализе 1747 случаев детского мастоцитоза установлено, что соотношение мальчики:девочки составляет 1,4 [5, 17]. Пятьдесят пять процентов случаев детского мастоцитоза диагностируется в течение первых 2 лет жизни, типично – в течение первых 6 месяцев, 35% – в возрасте старше 15 лет, остальные 10% – в возрасте до 15 лет [5, 18, 19]. Описано несколько случаев, когда признаки мастоцитоза имели место у младенцев при рождении [5], в очень редких случаях дети рождались с агрессивным неонатальным мастоцитозом [17]. Есть сведения о случаях мастоцитоза у монозиготных близнецов [18]. Семейные случаи, вовлекающие как минимум родственников первой линии, описаны в 2–4% случаев, большинство из которых имеют отношение к герминальным мутациям *c-KIT* (germline mutations) [5]. Тем не менее детский мастоцитоз считается спорадическим, а не наследственным заболеванием [6]. Позднее начало заболевания у детей коррелирует с повышенным риском развития СМ.

ЛТК впервые описан в 1906 г. Joachim [20]. Это очень редкая субкатегория СМ, которая в Америке составляет около 1%, во Франции – менее 0,5% случаев взрослого СМ. Преобладают женщины (чаще в 1,5 раза), средний возраст 52 года (5–76 лет). В литературном обзоре [13], основанном на анализе всех опубликованных доказанных случаев ЛТК (Pubmed database) с 1950 по 2013 г., представлен 51 случай. Среди них не было ни одного семейного случая, но имелись 4 пациента с предшествовавшим детским мастоцитозом, у которых произошла

эволюция в ЛТК. После короткого периода наблюдения 66% пациентов умерли, среднее время выживания составило 6 (1–98) мес.

Патофизиология, генетические основы и молекулярные маркеры при мастоцитозе

Патогенез мастоцитоза у детей окончательно не ясен. ТК млекопитающих (лаброциты, мастоциты, ТК) – это мультипотентные клетки, встречающиеся практически во всех органах и тканях (кроме хрящевой и костной), располагаются вблизи кровеносных и лимфатических сосудов, в тесном контакте с нервными окончаниями вегетативной нервной системы [21, 22].

ТК происходят из популяции мезенхимальных стромальных клеток костного мозга. Источником всех ТК (и базофилов) является плюрипотентная гемопоэтическая стволовая клетка красного костного мозга с иммунофенотипом CD34⁺. Непосредственная родоначальная клетка линии ТК предположительно менее дифференцирована, чем родоначальные клетки, коммитированные в направлении развития нейтрофильных гранулоцитов, макрофагов или эритроцитов [21].

Основным фактором, который непосредственно влияет на пролиферацию и развитие ТК, является фактор стволовых клеток, который в норме синтезируется стромальными клетками. Рецептор для фактора стволовых клеток экспрессируется на поверхностной мембране ТК (поверхностный гликопротеин CD117, известный как KIT) и действует как трансмембранный рецептор с тирозинкиназной активностью. Кодирован KIT (CD117) *c-Kit* протоонкоген, который у людей локализуется на хромосоме 4q12. KIT-протеин экспрессируется на CD34⁺-гемопоэтических клетках костного мозга, периферической и пуповинной крови. Экспрессия KIT теряется при созревании большинства гемопоэтических клеток, но не ТК. Предшественники ТК созревают посредством активации KIT-рецептора, вследствие чего экстрацеллюлярный домен KIT связывается с его лигандом, фактором стволовой клетки. Это взаимодействие играет ключевую роль в развитии и созревании ТК, а также стимулирует адгезию, миграцию, выживание зрелых ТК и высвобождение ими медиаторов.

Поскольку ТК являются эффекторными клетками врожденной и приобретенной иммунной системы, они располагаются на поверхностях, ближе к внешней среде. ТК особенно многочисленны в коже, дыхательной системе, ЖКТ и мочеполовом тракте. К функциям ТК относятся презентация антигена, ангиогенез, заживление ран, ремоделирование тканей, фиброз, отторжение трансплантата и опухолевое выживание. Проведенные эксперименты доказывают участие биологически активных веществ ТК головного мозга

в механизмах высшей нервной деятельности [14]. ТК способны как дегранулировать, так и трансгранулировать посредством формирования филоподий (тонких пальцевидных выпячиваний), которые прикрепляются непосредственно к нейрональной мембране. Вследствие трансгрануляции воспалительные медиаторы напрямую захватываются нервом при помощи эндоцитоза и высвобождаются в цитоплазму нерва.

Цитоплазма зрелых ТК более чем на 40% заполнена специфическими гранулами, основными компонентами которых являются нейтральные протеазы (триптаза и/или химаза) и гепарин. Кроме того, гранулы ТК содержат важные биологически активные вещества с регуляторными свойствами: гистамин, серотонин, дофамин, хондроитинсульфат, гиалуроновую кислоту, хемотаксический фактор нейтрофилов, фактор активации тромбоцитов, нейропептиды, фосфолипиды, окислительные ферменты (супероксиддисмутаза и пероксидаза), протеазы, способные активировать калликреин, прекалликреин, обладающие свойствами эластазы и катепсина С, хемоаттрактанты нейтрофилов, протамин, производные ненасыщенных жирных кислот, иммунорегуляторные цитокины, факторы роста, активатор плазминогена тканевого типа (более 200 воспалительных медиаторов). Характерной чертой медиаторов ТК является разнонаправленное действие на один и тот же процесс, что определяется как многообразием медиаторов, так и особенностями их регуляторных свойств. Так, например, гистамин ТК повышает коагулянтные (тромботические) свойства крови, увеличивает проницаемость сосудов, оказывает ноцицептивное действие, является одним из наиболее важных медиаторов воспаления. В то же время гепарин проявляет антикоагулянтные свойства, снижает проницаемость капилляров, оказывает противовоспалительное и антиноцицептивное действия [6, 21].

При активации ТК в ответ на нервные или иммунные стимулы содержимое гранул поступает в межклеточное пространство путем апокринового и мерокринового типов секреции: происходит дегрануляция (выход гранул) и гранулолизис (секреция содержимого гранул). Полностью дегранулированные ТК в норме остаются жизнеспособными и через некоторое время восстанавливают пул медиаторов. Среди множества веществ, способных активизировать ТК, следует отметить основные – антигены, иммуноглобулин Е и ионофоры. В ответ на различные воздействия ТК отвечают стереотипной реакцией – изменением количества клеток, выбросом медиаторов из гранул, снижением содержания в них гепарина. Определяющими факторами в механизме секреции являются сила, характер, длительность стрессорного воздействия, инди-

видуальные, видовые и возрастные особенности организма.

Измерение триптазы в сыворотке крови привело к одному из самых значительных прорывов в диагностике и мониторингировании мастоцитоза [23]. Исследование уровня триптазы производится при помощи иммуноферментного анализа (ImmunoCAP Tryptase, Thermo Fisher Scientific Inc.), который позволяет определять уровень триптазы в биологических жидкостях. У взрослых уровень сывороточной триптазы ассоциирован с общей массой ТК, а также со степенью инфильтрации костного мозга при СМ. Прогрессирующее нарастание уровня триптазы при последовательных измерениях ассоциируется с прогрессией заболевания и неблагоприятным прогнозом. Несмотря на клинические и фенотипические различия детских и взрослых форм мастоцитоза, обе они являются клональными заболеваниями, в большинстве случаев ассоциированными с соматическими мутациями, усиливающими функции гена *KIT* (Somatic gain-of-function mutations) [19, 24–27].

Эти мутации вызывают независимую от фактора стволовых клеток (stem cell factor-independent) активацию и фосфорилирование гена *KIT*, что, в свою очередь, приводит к дифференцировке ТК из гемопоэтических клеток-предшественниц, повышению выживаемости и последующему накоплению их в различных органах [24, 25].

Установлено, что активирующие мутации гена, кодирующего *KIT*-рецептор (*c-Kit*), имеют место у 90% взрослых пациентов с СМ и играют решающую роль в патогенезе мастоцитоза [2, 3, 5, 7].

Детский мастоцитоз считается клональным расстройством, ассоциированным с мутациями протоонкогена *KIT* в разных соотношениях: от 0 до 83% [28]. В отличие от пациентов, у которых заболевание началось во взрослом возрасте, у детей эта мутация определяется только в 1/3 случаев [26]. Мультицентровое французское исследование, в которое были включены 50 детей с мастоцитозом, установило, что мутация *KIT* D816V была установлена в 36% случаев, мутации кодона 816 в экзоне 17 (D816V, D816Y и D816I) были обнаружены у 42% детей, а у 86% пациентов в кожных элементах определялись другие мутации в гене *KIT*. Отсутствие какой бы то ни было мутации в кодоне 816 было детектировано у 58% обследованных детей [29]. Секвенирование всего гена *KIT* у детей, у которых не была выявлена мутация в кодоне 816 (D816V, D816Y, D816I), в 44% установило другие мутации, вовлекающие экзоны 8, 9, 11 и 13 [26, 27].

Интересно, что у некоторых пациентов с мастоцитозом не было молекулярных повреждений в пределах гена *KIT*, что дает основание предполагать наличие повреждений в других генах,

которые могут влиять на клиническую картину заболевания [24].

При мастоцитозе «врожденность», ассоциированная с герминальными мутациями в гене *KIT*, встречается крайне редко, и эти зародышевые мутации имеют отношение к разным регионам гена *KIT*, таким как N822I, F522C, K509I, S451C, R634W, Del 419, A533D, S476I [30–32].

В семьях, в которых мастоцитоз наследуется по аутосомно-доминантному пути, пациенты, как правило, имеют повышенный уровень триптазы, внекожное вовлечение и хроническое течение заболевания [31]. Было продемонстрировано, что присутствие мутаций *KIT* в кожных биоптатах не является предиктором дальнейшей эволюции заболевания [19], не коррелирует с клиническим фенотипом и не является прогностическим фактором [6, 19, 32].

Выявление мутации *KIT* D816V в костном мозге и/или периферической крови может свидетельствовать о СМ [9]. Тем не менее мутация D816V как таковая относится только к «малым» критериям СМ и ее определение в костном мозге/периферической крови не приводит автоматически к диагнозу СМ ни у взрослых, ни у детей.

Генетические повреждения у детей с продвинутой СМ, сведения о которых опубликованы в виде клинических случаев в течение последних 10 лет, представлены в таблице 1 [6].

Мутационный статус гена *KIT* был установлен только в нескольких случаях ЛТК у взрослых с анамнезом мастоцитоза в детском возрасте [6].

В опубликованных случаях у пациентов с доказанным ЛТК были выявлены мутации F522C и Dup502-503. Сведения о специфических генетических повреждениях имеют высокую клиническую значимость, поскольку молекулярная характеристика этого заболевания имеет большое значение для выбора эффективной и направленной терапии [1].

Определение и диагностические критерии лейкоза из тучных клеток

ЛТК представляет собой лейкемическую манифестацию СМ, характеризуется экспансией незрелых ТК в костном мозге и других внутренних органах и имеет неблагоприятный прогноз [33]. Диагноз ЛТК устанавливается на основании совокупности признаков СМ и присутствия как минимум 20% незрелых ТК в пробах костного мозга. Изучение литературы указывает на то, что СМ очень редко встречается у детей [6, 7].

Тем не менее в последнее время СМ диагностируется чаще, чем в предыдущее десятилетие. Этот факт главным образом объясняется прогрессом в области диагностических возможностей, достигнутым за последние годы, и в первую очередь качественной и количественной идентификации мутации *KIT* D816V

в периферической крови [8, 9, 34]. Таблица 2 демонстрирует выявленную в группах детей с мастоцитозом пропорцию пациентов с СМ [6].

Диагностические критерии СМ одинаковы для детей и взрослых (таблица 3). Критерии СМ, установленные ВОЗ [3, 4, 35, 36], делятся на прямые, основанные на выявлении аномальных анатомических повреждений (агрегатов ТК), морфологически атипичных ТК, экспрессии поверхностных антигенов (CD25) или атипичных молекулярных маркеров (мутации *c-Kit*), и не прямые.

Главным критерием СМ являются плотные (более 15 ТК в 1 агрегате), мультифокальные, паратрабекулярные или периваскулярные инфильтраты в гистологических препаратах костного мозга и/или внекожных тканевых биоптатах. Для агрес-

сивных форм характерным признаком является фиброз.

«Малые» критерии СМ: а) более 25% всех ТК в препаратах костного мозга являются атипичными клетками (type I или type II) или характеризуются веретеновидной формой; б) точечная мутация в кодоне 816 гена *KIT*, которая выявляется в костном мозге или других внекожных органах; в) ТК демонстрируют иммунофенотип CD25⁺ и/или CD2⁺; г) уровень триптазы в сыворотке превышает предельно допустимый показатель (более 20 нг/мл). Диагноз СМ устанавливается на основании как минимум 1 главного критерия и 1 вспомогательного или 3 вспомогательных критериев.

Большинство детей с СМ страдают от индолентного СМ с кожным вовлечением [7–9]. Продви-

Таблица 1

Продвинутый СМ у детей: клинические случаи с молекулярной диагностикой, опубликованные за последние 10 лет

Table 1

Advanced systemic mastocytosis (SM) in children: clinical cases with molecular diagnosis published over the last 10 years

Публикации Source	Категория СМ SM category	Мутация <i>KIT</i> в костном мозге <i>KIT</i> mutation in the bone marrow	Цитогенетика Cytogenetic findings	Возраст, пол Age, gender	Кожные проявления Skin lesions
S. Intzes et al. (2011)	SM-AHN (AML)	D816V(–)	t(8;21)(q22;q22)	5 лет, девочка 5 years, female	Нет None
K.M. Mahadeo et al. (2011)	SM-AHN (AML)	D816V(–) No mutation in exon 8, 9, 11, 13, 17	t(8;21)(q22;q22)	10 лет, девочка 10 years, female	Нет None
M. Yabe et al. (2012)	SM-AHN (AML)	D816A(+)	t(8;21)(q22;q22)	5 лет, девочка 5 years, female	Нет None
V.S. Gadage et al. (2012)	SM-AHN (AML)	D816V:ND	t(8;21)(q22;q22)	14 лет, девочка 14 years, female	Нет None
A. Gogia et al. (2013)	SM-AHN (AML)	Codon 816(–)	46,XX	3 года, девочка 3 years, female	Макулопапулезные высыпания Maculopapular rash
N. Rabade et al. (2016)	SM-AHN (AML)	D816V(–)	t(8;21)(q22;q22)	7 лет, девочка 7 years, female	Нет None
S.G. Mitchell et al. (2017)	SM-AHN (CMML)	D816H(+)	49,XX,+8,+8,der(8)t(1;8)(q21;p11.2),+12,i(12)(p10)	13 лет, девочка 13 years, female	Нет None
A. Huang et al. (2017)	ASM	D816V(+)	ND	1 месяц, мальчик 1 month, male	Диффузная сыпь Diffuse lesions
Y. Zheng et al. (2018)	MCL	D816V(–)	47,XY+5,t(1;9)	13 лет, мальчик 13 years, male	Нет None

Примечание. SM – СМ; AHN – СМ, ассоциированный с системным заболеванием кроветворения; AML – ОМЛ; CMML – хронический миеломоноцитарный лейкоз; ASM – агрессивный СМ; MCL – ЛТК; ND – не выполнялось; (+) – положительный результат; (–) – отрицательный результат.

Notes. SM – systemic mastocytosis; AHN – SM with an associated systemic hematological disorder; AML – acute myeloid leukemia; CMML – chronic myelomonocytic leukemia; ASM – aggressive SM; MCL – mast cell leukemia; ND – not done; (+) – positive result; (–) – negative result.

Таблица 2

Случаи СМ, представленные в исследованиях детей с мастоцитозом

Table 2

SM cases reported in pediatric studies on mastocytosis

Публикации Source	Число пациентов, n Number of patients, n	Число пациентов с СМ, n (%) Number of patients with SM, n (%)	Форма СМ Form of SM
C. Bodemer et al. (2010)	65	1 (1,5)	Нет данных Data not available
I. Alvarez-Twose et al. (2012)	111	2 (1,8)	1 ISM, 1 WDSM
M. Lange et al. (2013)	101	1 (1)	1 ISM
C. Méni et al. (2015)	1747	16 (0,9)	4 ISM, 8 MCS, 4 MCL
M. Carter et al. (2015)	108	18 (16,6)	18 ISM
A. Matito et al. (2015)	42	2 (4,8)	2 WDSM
C. Méni et al. (2018)	53	1 (1,9)	1 IS
M. Carter et al. (2018)	65	23 (35,4)	23 ISM
J. Czarny et al. (2020)	32	4 (12,5)	1 SSM, 3 ISM

Примечание. SM – СМ; ISM – индолентный СМ; WDSM – хорошо дифференцированный СМ; MCS – саркома из ТК; MCL – ЛТК.

Notes. SM – systemic mastocytosis; ISM – indolent SM; WDSM – well-differentiated SM; MCS – mast cell sarcoma; MCL – mast cell leukemia.

Таблица 3
Диагностические критерии СМ

Table 3
Diagnostic criteria for SM

Критерии Criteria		Характеристика Features
Прямые Direct	Главные Major	Мультифокальные агрегаты (более 15 ТК) в срезах и/или мазках костного мозга. Эти критерии имеют отношение и к другим тканям. Multifocal aggregates (> 15 mast cells) in bone marrow sections and/or smears. These criteria apply in case of other tissues as well
	Вспомогательные Minor	Атипичная морфология у более 25% ТК в мазках костного мозга. Экспрессия CD25 ± CD2 на поверхности ТК костного мозга. Определение мутации <i>c-Kit</i> в экзоне 17 или других положениях. Atypical morphology in > 25% of mast cells in bone marrow smears. CD25 ± CD2 expression on the surface of bone marrow mast cells. Detection of <i>c-Kit</i> mutation in exon 17 or elsewhere
Непрямые Indirect		Повышение уровня сывороточной триптазы. Присутствие КМ Elevated serum tryptase levels Cutaneous mastocytosis (CM)

нутые формы СМ, такие как агрессивный СМ, СМ, ассоциированный с сопутствующей миелоидной неоплазией и ЛТК при мастоцитозе, стартовавшем в детском возрасте, встречаются чрезвычайно редко и поэтому сведения о них публикуются в виде презентаций клинических случаев (представлены в таблице 1) [6]. У детей с продвинутыми формами СМ могут наблюдаться кожные проявления, но в подавляющем большинстве опубликованных случаев у детей не было характерных кожных проявлений, что могло приводить к отсрочке установления корректного диагноза. Более того, у детей с СМ может отсутствовать характерная мутация *KIT* D816V в костном мозге [37].

Клиническая и лабораторная характеристика лейкоза из тучных клеток

Пациенты могут страдать, с одной стороны, от симптомов, связанных с высвобождением медиаторов из ТК, которые включают кожный зуд, приливы, эпизоды гипотонии, анафилаксию, боли в животе и диарею. С другой стороны, проявления заболевания обусловлены органной дисфункцией в результате инфильтрации пораженных органов ТК.

Часто наблюдаются такие симптомы как приливы (60%), лихорадка (52%), слабость (36%), диарея (28%), тахикардия (20%), поллакиурия (7%), нейropsychические расстройства (6%), тяжелый остеопороз (6%) [13]. Многие пациенты страдают от астении (78%), значительной (более 10%) потери массы тела (38%) и анорексии (20%). При физикальном обследовании частыми признаками являются гепатоспленомегалия (68%), увеличение лимфатических узлов (37%), вовлечение кожи (30%). Проявления со стороны ЖКТ включают язву желудка или 12-перстной кишки (29%), которые нередко осложняются желудочно-кишечным кровотечением (64%), асцит (18%) и портальную гипертензию (16%).

Характерны следующие лабораторные признаки [13, 33]:

- анемия, средний уровень гемоглобина 99 г/л;
- тромбоцитопения, средний уровень тромбоцитов $110,0 \times 10^9/\text{л}$;
- лейкоциты в пределах нормы, средний уровень $3,65 \times 10^9/\text{л}$;
- повышение уровня сывороточной триптазы, средний показатель 433 (21–2367) нг/л.

Морфологическая картина костного мозга

ЛТК отличается от всех других форм СМ тем, что может быть диагностирован на основании только одной морфологии. Средний уровень инфильтрации костного мозга составил 50% (20–100%). В мазках костного мозга, окрашенных по Романовскому–Гимзе, нормальные ТК и их предшественники демонстрируют 4 морфологических стадии дифференцировки: 1) негранулированные, но триптаза-позитивные бластные клетки; 2) метакроматические бласты; 3) промастоциты; 4) типичные круглые мононуклеарные зрелые ТК с метакроматическими гранулами в цитоплазме. ТК больных ЛТК демонстрируют такие морфологические аномалии как удлинение цитоплазмы с приобретением клеток веретенообразной формы, эксцентрично расположенное овальное ядро, гипогранулированная цитоплазма и фокальное аккумуляирование гранул. Для ЛТК характерно появление незрелых форм ТК (редко наблюдаемое при других формах СМ), напоминающих весь спектр морфологической дифференцировки со специфическими аномалиями: поляризованные или коалесцентные гранулы, цитоплазматические лакунарные зоны, выраженные нуклеолы, четкий ядерный хроматин, би- или мультилобулированное ядро (рисунок 1).

Иммунофенотип

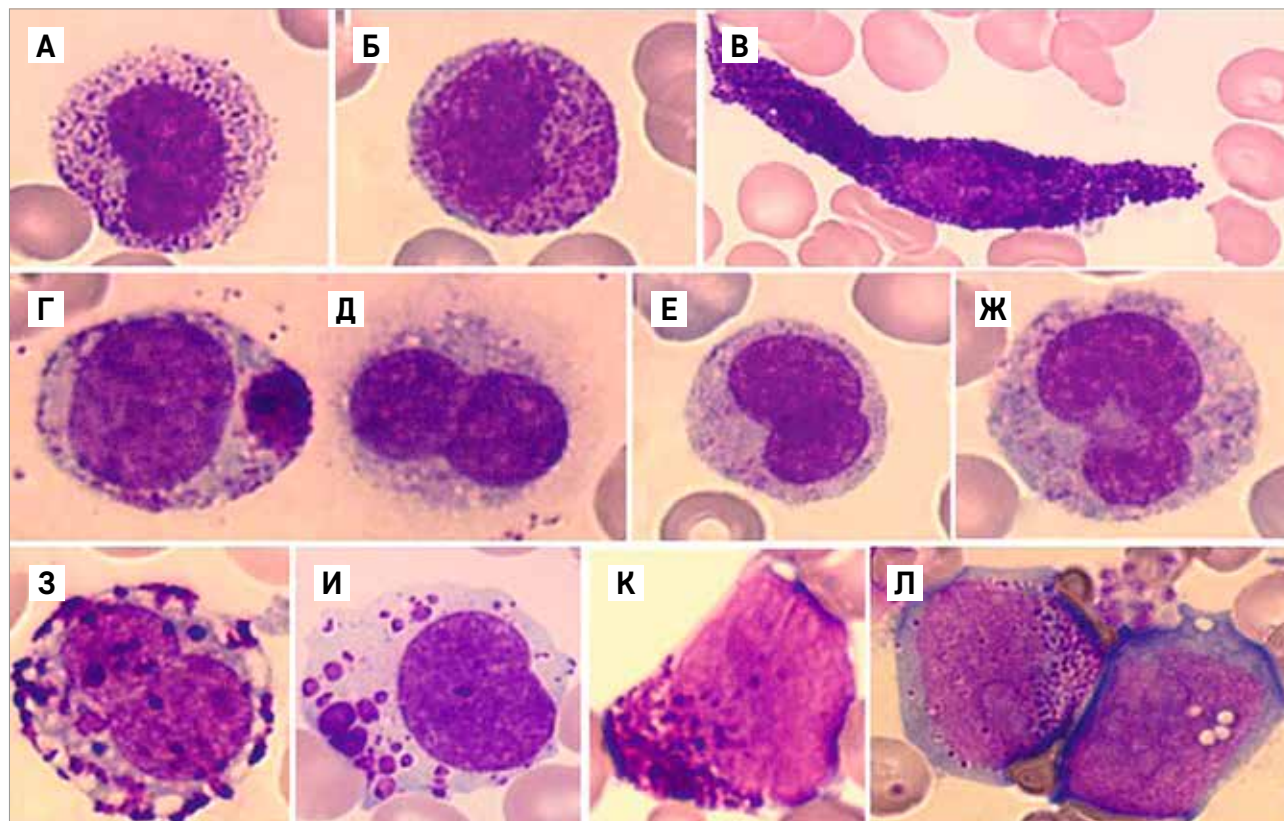
При помощи проточной цитометрии или иммуногистохимии удается идентифицировать аномальную

Рисунок 1**Цитологические аномалии ТК при ЛТК**

ТК при ЛТК ранжируют от зрелых ТК (А–Г) до более незрелых клеток с промастоцитами (Д–И) и даже метохроматическими (К, Л) или негранулированными бластами (Л). А, Б – циркулирующие круглые ТК; В – веретенообразная ТК; Г – плотно упакованный и полярно расположенный агрегат гранул; Д–Ж – дегранулированные/гипогранулированные промастоциты; З, И – коалесцентные гранулы; И – лакунарные цитоплазматические зоны; К, Л – недифференцированные незрелые клетки с метохроматическими гранулами и выраженными нуклеолами

Figure 1**Cytological abnormalities of mast cells in MCL**

MCs in MCL range from mature MCs (A–Г) to more immature cells with promastocytes (Д–И) and even metachromatic or (K, Л) ungranulated blasts (Л). А, Б – circulating round MCs; В – a spindle-shaped mast cell; Г – a densely packed polar granule aggregate; Д–Ж – degranulated/hypogranulated promastocytes; З, И – coalescent granules; И – lacunar cytoplasmic areas; К, Л – undifferentiated immature cells with metachromatic granules and prominent nucleoli



антигенную экспрессию на ТК. Главным признаком атипичных ТК является экспрессия CD2 и/или CD25, которая относится к разряду «малых» критериев диагностики мастоцитоза. При ЛТК ТК могут одновременно экспрессировать CD2 и CD25, хотя экспрессия CD25 не была обнаружена у 25% пациентов, а в 48% случаев отсутствовала экспрессия CD2; 1/3 пациентов, по данным литературы, с двойной (CD2/CD25) негативной экспрессией. Показано, что одновременная экспрессия CD2 и CD25 часто наблюдалась у пациентов с мутацией *KIT* D816V (66%), по сравнению с 25% у *KIT* D816V-негативных больных. При агрессивных формах СМ и при ЛТК регистрируется активированный фенотип с экспрессией маркеров незрелости: CD123, CD34, HLA-DR, редуцированной экспрессией CD117 и FcεRI. Незрелый иммунотип коррелирует с мультилинейными мутациями *KIT* и плохим прогнозом. Из этого наблюдения возникла концепция о том, что мутации *KIT* происходят в ранних предшественниках, что приводит к мультилинейному вовлечению, раннему блоку дифференцировки ТК и

агрессивной болезни. Напротив, мутации, которые происходят в более зрелых предшественниках, остаются в ТК и приводят к позднему блоку дифференцировки.

Диагностический алгоритм при детском мастоцитозе

У детей с подозрением на СМ необходимы оперативные диагностические шаги, которые включают морфологическую оценку костного мозга с окраской по Wright–Giemsa или May–Grünwald–Giemsa, проточную цитометрию и определение мутации *KIT* D816V; гистологическое и иммуногистохимическое исследование костного мозга с окраской на триптазу, CD117, CD25, CD2 и CD30 [6, 7].

Принимая во внимание, что СМ у детей является редким заболеванием, существует общепринятый подход к исследованию костного мозга только у тех детей, у которых предполагается диагноз агрессивного СМ. С недавнего времени стандартной скрининговой процедурой стала чувствительная

аллель-специфическая количественная полимеразная цепная реакция (sensitive, allele-specific quantitative polymerase chain reaction, ASqPCR) для выявления мутации *KIT* D816V в периферической крови. Выявление мутации *KIT* D816V в периферической крови 65 детей с разными формами СМ и индолентным СМ в высокой степени свидетельствовало о системном характере заболевания [8]. Основываясь на этих результатах, *KIT* D816V ASqPCR в периферической крови инкорпорирована в современный диагностический алгоритм детского мастоцитоза. Этот анализ используется у детей с органомегалией, повышенным уровнем триптазы и/или тяжелыми симптомами синдрома высвобождения медиаторов ТК и распространенным кожным вовлечением.

В ходе мониторинга за пациентом необходим постоянный контроль уровня триптазы в сыворотке,

клинического анализа крови и биохимических параметров. Базальный уровень триптазы является единственным критерием СМ, который легко может быть определен за пределами высокоспециализированных центров и по этой причине является ценным диагностическим инструментом.

Все дети с кожным поражением, типичным для мастоцитоза, и серьезными отклонениями в клиническом анализе крови должны быть консультированы гематологом на предмет исключения или подтверждения диагноза СМ или другого злокачественного гематологического заболевания.

При персистенции кожных проявлений у пациентов, достигших совершеннолетия, требуется повторное проведение исследований на предмет исключения СМ. На рисунке 2 представлен диагностический алгоритм для детского мастоцитоза. У

Рисунок 2

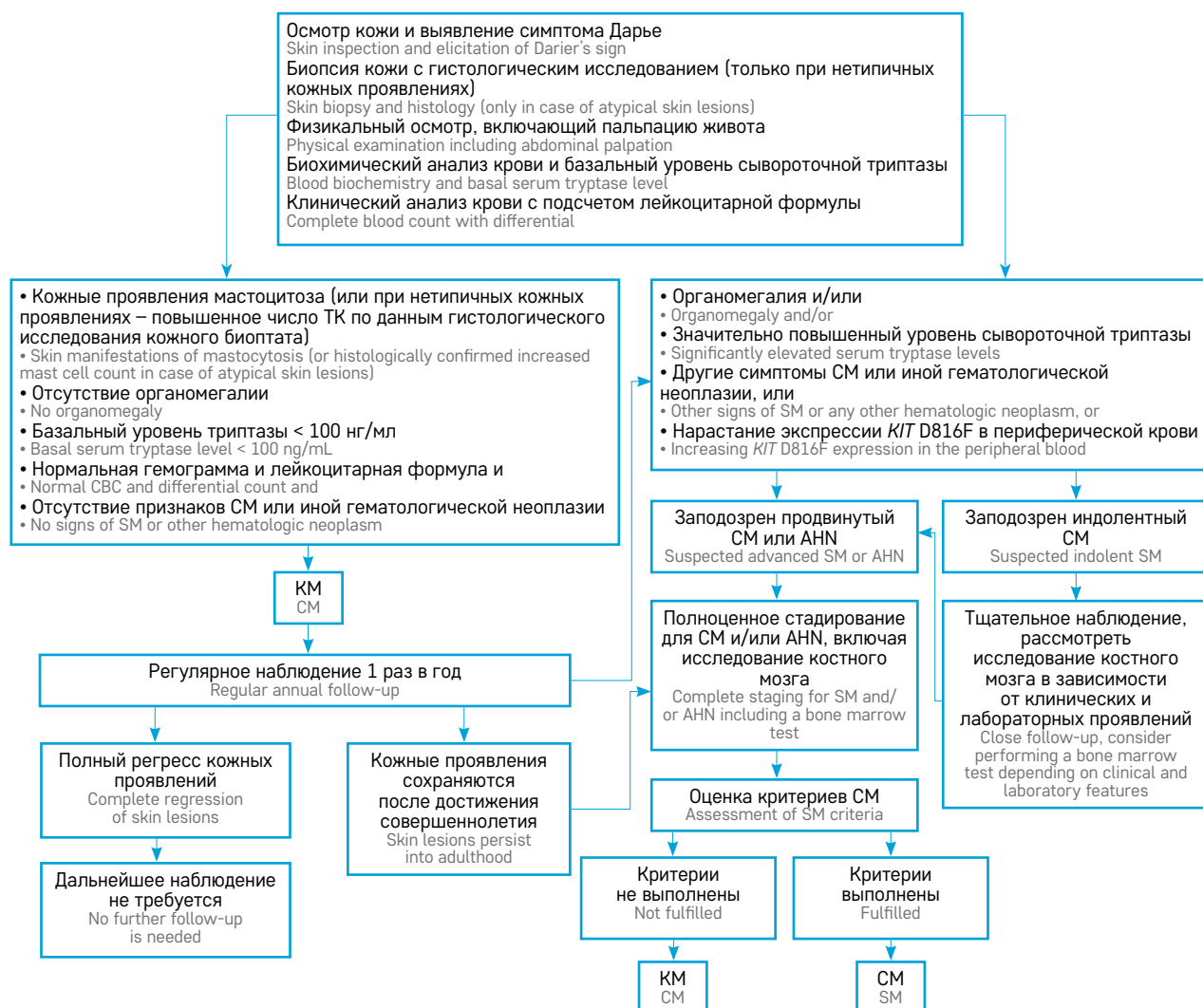
Диагностический алгоритм для детского мастоцитоза (объяснение в тексте)

Повышенный уровень сывороточной триптазы (20–100 нг/мл) должен рассматриваться в корреляции с интенсивностью кожных проявлений и в контексте вероятности врожденной альфа-триптаземии (значительное повышение уровня сывороточной триптазы само по себе не является показанием для проведения пункции костного мозга)

Figure 2

A diagnostic algorithm for pediatric mastocytosis (explained in the text)

Elevated serum tryptase levels (20–100 ng/mL) should be assessed in correlation with the intensity of skin involvement and in the context of a known hereditary alpha tryptasemia (a significantly elevated serum tryptase level is not in itself an indication for BM aspiration)



большинства детей с кожными проявлениями при инициальном обследовании нет симптомов, указывающих на СМ или другое злокачественное гематологическое заболевание, поэтому диагностируется КМ (левая часть алгоритма). У этих детей исследование костного мозга проводится только в случае сохранения кожных проявлений по достижении взрослого возраста. У очень небольшого числа пациентов детского возраста могут быть обнаружены изменения в гемограмме, органомегалия или другие симптомы, характерные для СМ или другого злокачественного гематологического заболевания (правая часть алгоритма). В зависимости от конкретно предполагаемого заболевания эти пациенты либо более тщательно наблюдаются (при подозрении на индолентный СМ), либо проходят полное стадирование, включая пункцию костного мозга.

Лечение

Для лечения СМ и ЛТК у детей не существует стандартных рекомендаций и используются терапевтические опции, подобные таковым у взрослых. Лечение основывается на типе и тяжести клинических проявлений, возрасте и наличии коморбидности [13, 33].

В целом лечение ЛТК может быть разделено на 2 большие категории:

1) контроль симптомов, связанных с активацией ТК и высвобождением медиаторов, и облегчение расстройств, ассоциированных с заболеванием;

2) попытка редукции массы ТК при агрессивных формах и увеличение выживаемости посредством использования циторедуктивной терапии [36]. В связи с крайней редкостью ЛТК этому заболеванию посвящено очень небольшое количество клинических исследований. На сегодняшний день не существует определенного лечебного протокола для лечения ЛТК у детей, описано несколько терапевтических опций [6, 7, 13, 36]:

1) глюкокортикостероиды – часто используются, особенно в дебюте заболевания. В высоких дозах могут индуцировать редукцию ТК и улучшить клинические симптомы. Тем не менее их эффект обычно транзиторный. Кроме того, требуется повышенное внимание в связи с высоким риском язвенного поражения ЖКТ;

2) интерферон-альфа – результаты скромные (2/6 пациентов с ЛТК имели парциальный ответ короткой продолжительности);

3) кладрибин (2-chlorodeoxyadenosine) – рекомендован в дозе 0,14 мг/кг/день в течение 5–7 последовательных дней. Основанием для использования кладрибина для лечения ЛТК служит то, что данный препарат наиболее токсичен в отношении моноцитов (*in vitro* и *in vivo*), а ТК, происходя из гемопоэтических

стволовых клеток, имеют общих предшественников с моноцитами;

4) химиотерапия – различные цитостатики показали способность индуцировать апоптоз и ингибировать пролиферацию клеточных линий человеческого ЛТК. Однако иммунохимиотерапия, предназначенная для лечения ОМЛ, не привела к желаемому эффекту при ЛТК, показав отсутствие эффекта;

5) аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – может играть потенциальную куративную роль при ЛТК. Тем не менее она имеет ограниченные возможности по полной эрадикации этого заболевания;

6) таргетная терапия ингибиторами тирозинкиназы (ИТК) – мутация *c-Kit* в кодоне 816 вызывает активацию KIT-киназы. Различные классы KIT-активирующих мутаций по-разному отвечают на KIT-ингибиторы в зависимости от места и типа мутации. Данные, детализирующие KIT-мутацию, являются чрезвычайно важными для прогнозирования лекарственной резистентности и обоснования индивидуализированной терапии [1]. Несколько таргетных лекарственных средств было протестировано при детском мастоцитозе [7]. Омализумаб – рекомбинантное гуманизованное моноклональное антитело, которое блокирует связывание IgE с рецептором FcεR1 на поверхности ТК, показал быстрый (непосредственный) и долгосрочный эффекты в отношении контроля тяжелых симптомов, связанных с дегрануляцией ТК у подростков с частыми эпизодами анафилаксии [38]. Среди ингибиторов киназ с активностью против ТК, несущих мутацию D816V и другие мутации гена *KIT*, мидостаурин – мультикиназный ингибитор, показан для лечения агрессивного СМ у пациентов с мутацией D816V или «дикий» типом гена *KIT*. Опубликованы данные о высокой эффективности и хорошей переносимости терапии мидостаурином у младенца с индолентным СМ [39]. ИТК – иматиниб и мазатиниб – имеют разные терапевтические показания. Тем не менее FDA утвердило использование иматиниба у пациентов с СМ при мутациях *KIT* вне экзона 17, в регуляторных сайтах (экстраклеточные и юкстамембранные участки гена), а также при неизвестных мутациях [17]. Маситиниб – новый высокоселективный ИТК, специфичен в отношении «дикого» типа KIT-, LYN- и FYN-киназ, которые играют решающую роль в патогенезе мастоцитоза, и может быть эффективным при рефрактерных случаях с мутациями в регуляторном сайте *c-Kit*. В дополнение милтефозин является многообещающим модулятором липидных соединений для локального использования [40]. На рисунке 3 представлен алгоритм для лечения ЛТК.

Представляем уникальный клинический случай ЛТК у 4-летнего ребенка, имевшего семейный анамнез мастоцитоза, с быстрой трансформацией

Рисунок 3

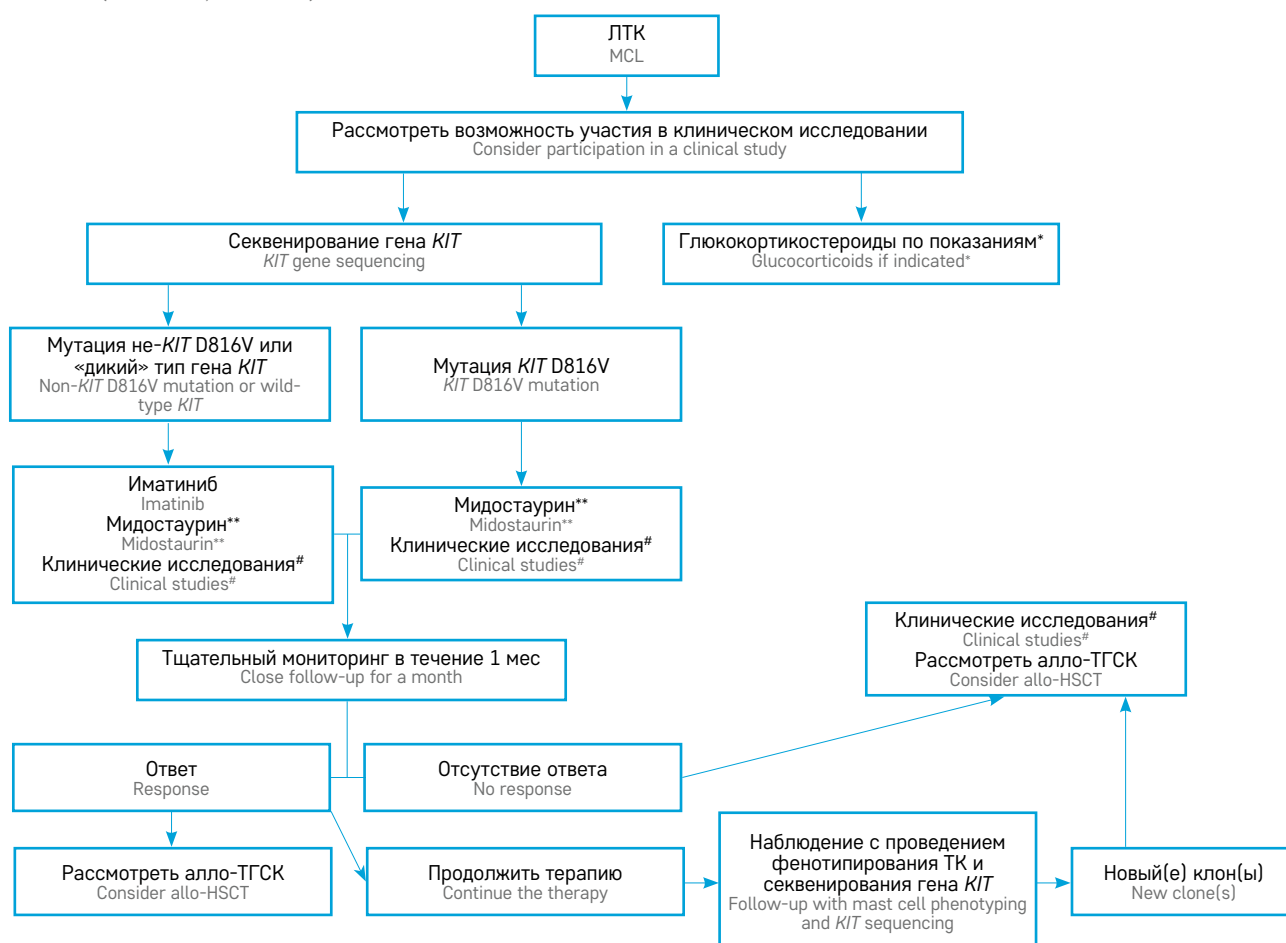
Алгоритм для лечения ЛТК

* – лихорадка, костные боли, приливы, симптомы активации ТК, сердечная недостаточность, плевральный выпот, асцит, цитопения; ** – при возможности доступа к препарату; # – примеры лекарств для клинических исследований: цитарабин, кладрибин (2-chlorodeoxyadenosine); FLAG (флударабин, арацитин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор); ИТК (мидостаурин, маситиниб, понатиниб, сорафениб) или ингибиторы Aurora kinase в комбинации с другими лекарствами; m-TOR-ингибиторы (рапамицин); ингибиторы деокси-нуклеотид-метилтрансферазы (азациитидин, децитабин)

Figure 3

A treatment algorithm for MCL

* – fever, bone pain, flushing, mast cell activation symptoms, cardiac failure, pleural effusion, ascites, cytopenia. ** – If accessible; # – examples of drugs for clinical studies: cytarabine, cladribine (2-chlorodeoxyadenosine); FLAG (fludarabine, aracytine, granulocyte colony stimulating factor); FLAG (флударабин, арацитин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор); ИТК (мидостаурин, маситиниб, понатиниб, сорафениб), or aurora kinase inhibitors in combination with other drugs; m-TOR inhibitors (rapamycin); deoxynucleotide methyltransferase inhibitors (azacitidine, decitabine)



заболевания из доброкачественной кожной формы в агрессивный СМ с фульминантным течением. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Девочка А.Ч., родилась 29.08.2011; 12.01.2016, в возрасте 4 лет, поступила в ДГБ №1 г. Санкт-Петербурга из Детского инфекционного стационара с жалобами на фебрильную температуру, явления интоксикации, повторный эпизод судорог на фоне лихорадки. Давность жалоб составила около 2 нед. Амбулаторно получала антибактериальную терапию (амоксиклав), но продолжала лихорадить, отмечен

эпизод болей в грудной клетке, в связи с чем госпитализирована в Детскую инфекционную больницу, где на фоне повышения температуры до 38,2°C отмечались судороги тонико-клонического характера, в связи с чем переведена в ДГБ №1.

Анамнез жизни: девочка от 1-й беременности на фоне токсикоза в I триместре. На сроке 20–21 недели беременности по данным ультразвукового исследования (УЗИ) диагностирована гипогенезия мозолистого тела. Родилась доношенной, на 40-й неделе гестации, масса 4000 г, длина тела 55 см, оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Страдала кожной формой мастоцитоза с 6-месячного возраста. В возрасте 8 месяцев была консультирована дерматологом и гематологом, диагностирован КМ, буллезная форма. К 2 годам кожные проявления стали менее ярко выра-

женными, мокнутия не отмечалось. В возрасте 3 лет 10 месяцев (июль 2015 г.) родители заметили образование на волосистой части головы в затылочной области, которое увеличивалось в динамике. Через 4 мес (ноябрь 2015 г.) отмечено увеличение шейной группы лимфоузлов до 3 см в диаметре, в связи с чем девочка была повторно (декабрь 2015 г.) обследована в отделении общей гематологии ДГБ №1. Диагностирована мастоцитомы с региональной шейной лимфаденопатией. Проведена биопсия лимфоузлов и мастоцитомы. Гистологическое заключение: картина мастоцитоза с поражением лимфатического узла и образованием крупного опухолевого узла в коже/дерме. Клетки имеют незрелую структуру, атипичный фенотип (CD2⁺) и умеренно высокую пролиферативную активность (35%). Заподозрен СМ, в связи с чем ребенок был консультирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, диагноз СМ не подтвержден. Заключение: кожная форма мастоцитоза с распространением на региональные лимфатические узлы; специальная терапия не требуется.

Генеалогический анамнез: у отца ребенка КМ, буллезная форма, у бабушки по отцовской линии КМ (пигментная крапивница), у тети по линии отца – снижение гемоглобина, заболевание кишечника, пигментная крапивница(?).

При поступлении в ДГБ №1 (12.01.2016): фебрильная лихорадка без клинически значимого очага инфекции, выраженные явления интоксикации. Очаговой неврологической симптоматики и менингеальных знаков не отмечалось. Обращали внимание гиперемия лица, элементы пигментной и уртикарной сыпи на коже туловища и конечностей. На шее справа визуализировался конгломерат лимфатических узлов максимальным размером до 12 см, умеренно болезненный при пальпации, без признаков воспаления. Полилимфаденопатия (надключичные, подмышечные, паховые, шейные, затылочные лимфоузлы диаметром до 1,5 см). Гепатомегалия (+ 4 см), размеры селезенки не увеличены. Диурез сохранен. Лабораторно имела место высокая параклиническая активность (прокальцитонинотест 95 нг/мл, повышение С-реактивного белка, в гемограмме: лейкоцитоз, нейтрофилез, тромбоцитопения). Девочка расценивалась как пациентка с генерализованной вирусно-бактериальной инфекцией с поражением печени, ЖКТ на фоне мастоцитоза. Получала инфузионную, антибактериальную, иммунозаместительную (пентаглобин) терапию.

В динамике состояние ребенка ухудшалось, несмотря на уменьшение активности белков острой фазы: появился и вырос отечный синдром с признаками выраженного полисерозита (свободная жидкость в брюшной полости, малом тазу, плевральных полостях) на фоне гипопроtein-/гипоальбуминемии,

несмотря на проводимую коррекцию альбумином. Предпринята попытка терапии метилпреднизолоном, но эффекта не получено. Состояние ребенка продолжало ухудшаться: сохранялся выраженный отечный синдром, через неделю от поступления появилась неврологическая симптоматика в виде потери чувствительности и двигательной активности в правой руке с последующим развитием повторного эпизода тонических судорог, в связи с чем была переведена на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ). В ходе магнитно-резонансной томографии головного мозга установлено острое нарушение мозгового кровообращения в области бифуркации средней мозговой артерии слева, отек паренхимы левого полушария, аплазия мозолистого тела.

С учетом клинической динамики, лабораторных данных и результатов нейровизуализации состояние пациентки трактовалось как агрессивный СМ с органами-мишенями: кожа, лимфатические узлы, костный мозг, печень, центральная нервная система, ЖКТ.

В целях подтверждения диагноза, исключения дебюта другого системного заболевания гемопоэза и решения вопроса о дальнейшей тактике ведения проведено расширенное обследование:

- пункция костного мозга, которая установила наличие атипичных ТК (28,4–43,2%) с иммунофенотипом CD2⁺, CD117⁺, CD13⁺CD33⁺, CD56⁺CD9⁺ (высокая экспрессия)/CD25⁺CD30⁺ и CD45⁺CD15⁺CD14⁺CD16⁺ (низкая экспрессия);
- биопсия шейного лимфоузла;
- трепанобиопсия костного мозга;
- исследование сывороточной триптазы (> 1200 мкг/л);
- исследование ликвора (не выявило патологических изменений).

При гистологическом и иммуногистохимическом (атипичные клетки экспрессируют CD117, MST (триптазу ТК), подавляющее большинство клеток умеренно экспрессирует CD30, экспрессия CD25 не выявлена) исследовании (проф. В.В. Байков) установлена картина опухоли из ТК с поражением костного мозга и лимфатического узла (ЛТК). На основании проведенного обследования установлен диагноз: агрессивный СМ с развитием ЛТК.

Ребенок по просьбе родителей ежедневно консультировался Dr. I. Alvarez (Центр по изучению мастоцитоза, Испания). Туда же был отправлен материал (костный мозг) для проведения иммунологического и молекулярно-генетического исследований. В ходе молекулярно-генетического исследования мутация *KIT* D816V не была выявлена. По согласованию с Dr. I. Alvarez с 22.01.2016 по 26.01.2016 был проведен курс химиотерапии кладрибином в дозе 0,14 мг/кг/день в течение 5 дней (введения после премедикации (димедрол, квамател, солю-медрол),

на фоне инфузионной терапии, аллопуринола, анти-микробной и противогрибковой терапии).

После проведения первого курса терапии отмечены купирование полисерозита и периферических отеков, уменьшение размеров шейных лимфатических узлов, снижение активности триптазы, нормализация острофазных белков. Тем не менее существенными клиническими проблемами оставались фебрильная лихорадка, тенденция к артериальной гипертензии, рецидивирующие кожные высыпания, гепатомегалия, явления кишечного пареза на фоне глубокой постцитостатической депрессии кроветворения, нейропсихические расстройства. Получала антимикробную, противосудорожную (карбамазепин), иммунокорректирующую, заместительную и симптоматическую терапию.

Ухудшение состояния через 3 нед от окончания химиотерапии: многократная рвота, периоды резкого беспокойства и плача сменялись сонливостью, 2 эпизода спастических судорог в правой ноге с последующим нарастанием неврологической симптоматики в виде появления выраженных менингеальных симптомов, нистагма с ротационным компонентом с последующим развитием судорожного статуса, в связи с чем девочка переведена на ИВЛ.

Выполнена магнитно-резонансная томография головного мозга: МР-признаки нарушения мозгового кровообращения в бассейне левой мозговой артерии по ишемическому типу с более выраженными изменениями в веществе левого полушария мозга. Диагностическая люмбальная пункция не выявила цитологических и биохимических отклонений от нормы. Лабораторно имели место тромбоцитопения, анемия; наметилась тенденция к восстановлению миелопоза (L 1,8, ANC 1044/мкл), белки острой фазы не повышены, получено дальнейшее снижение активности триптазы (229 мкг/л). По стабилизации состояния экстубирована, но обращала внимание выраженная заторможенность ребенка, в течение 3 дней находилась в состоянии сопора со сниженной реакцией на обращенную речь. В дальнейшем появилась стойкая тенденция к гипотонии, сопровожда-

ющаяся тахикардией, снижением темпа диуреза и развитием анурии. Реакции на инотропную поддержку не получено. В связи с появлением патологического дыхания и прогрессирующим ухудшением состояния переведена на ИВЛ с последующим наступлением летального исхода.

Особенностью данного случая явилось нехарактерное для детского возраста агрессивное течение основного заболевания с быстрой трансформацией из доброкачественной кожной формы в агрессивную системную форму и развитием ЛТК. Мутационный статус гена *KIT* установить не удалось. Заболевание в дебюте лейкемии на фоне гиперцитокинемии и полиорганной недостаточности осложнилось тяжелыми системными проявлениями в виде интоксикации, нарушения мозгового кровообращения, нейропсихических расстройств, полисерозита и пареза кишки, белково-электролитных и нутритивных нарушений, которые подвергались чрезвычайно медленной обратной динамике в ответ на проводимую терапию. После курса терапии кладрибином отмечена небольшая динамика в виде уменьшения лимфаденопатии, купирования полисерозита, снижения активности триптазы. Непосредственной причиной ухудшения состояния ребенка и развития летального исхода, по-видимому, стало фульминантное течение оппортунистической инфекции с развитием тяжелого сепсиса с неполной ремиссией основного заболевания, сопровождавшегося гиперцитокинемией, нестабильностью биологических мембран и состоянием вторичного иммунного дефицита на фоне депрессии кроветворения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Boychenko E.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2731-4531>

Литература

1. Valent P., Akin C., Gleixner K.V., Sperr W.R., Reiter A., Arock M., et al. Multidisciplinary challenges in mastocytosis and how to address with personalized medicine approaches. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 1–17.
2. Pardanani A. Systemic mastocytosis in adults: 2019 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol* 2018; 94 (3): 363–77.
3. Valent P., Akin C., Metcalfe D.D. Mastocytosis: 2016 updated WHO classification and novel emerging treatment concepts. *Blood* 2017; 129 (11): 1420–7.
4. Horny H.P., Akin C., Arber D., Peterson L.A., Tefferi A., Metcalfe D.D., et al. Mastocytosis. In: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., et al. (eds.). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2017.
5. Meni C., Bruneau J., Gerogin-Lavialle S., Le Saché de Peufeilhous L., Damaj G., Hadj-Rabis S., et al. Pediatric mastocytosis: A systematic review of 1747 cases. *Br J Dermatol* 2015; 172 (3): 642–51.
6. Lange M., Hartmann K., Carter M.C., Siebenhaar F., Alvarez-Twose I., Tor-

- rado I., et al. Molecular background, clinical features and management of pediatric mastocytosis: status 2021. *Int J Mol Sci* 2021; 22 (5): 2586.
7. Giona F. Pediatric mastocytosis: an update. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2021; 13 (1): e2021069.
 8. Carter M.C., Bai Y., Ruiz-Esteves K.N., Scott L.M., Cantave D., Bolan H., et al. Detection of *KIT* D816V in peripheral blood of children with manifestations of cutaneous mastocytosis suggests systemic disease. *Br J Haematol* 2018; 183 (5): 775–82.
 9. Czarny J., Zuk M., Zawrocki A., Plata-Nazar K., Biernat W., Niedoszytko M., et al. New Approach to Paediatric Mastocytosis: Implications of *KIT* D816V Mutation Detection in Peripheral Blood. *Acta Derm Venerol* 2020; 100 (10): adv00149.
 10. Carter M.C., Clayton S.T., Komarow H.D., Brittain E.H., Scott L.M., Cantave D., et al. Assessment of clinical findings, tryptase levels, and bone marrow histopathology in the management of pediatric mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136 (6): 1673–9.
 11. Lange M., Niedoszytko M., Niedoszytko B., Łata J., Trzeciak M., Biernat W. Diffuse cutaneous mastocytosis: Analysis of 10 cases and a brief review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; 26 (12): 1565–71.
 12. Valentini C.G., Rondoni M., Pogliani E.M., Van Lint M.T., Cattaneo C., Marbello L., et al. Mast cell leukemia: a report of ten cases. *Ann Hematol* 2008; 87 (6): 505–8.
 13. Georgin-Lavialle S., Lhermitte L., Dubreuil P., Chandesris M.-O., Hermine O., Damaj G. Mast cell leukemia. *Blood* 2013; 121 (8): 1285–95.
 14. Lim K.H., Tefferi A., Lasho T.L., Finke C., Patnaik M., Butterfield J.H., et al. Systemic mastocytosis in 342 consecutive adults: survival studies and prognostic factors. *Blood* 2009; 113 (23): 5727–36.
 15. Cohen S.S., Skovbo S., Vestergaard H., Kristensen T., Møller M., Bindslev-Jensen C., et al. Epidemiology of systemic mastocytosis in Denmark. *Br J Hematol* 2014; 166 (4): 521–8.
 16. Van Doormaal J.J., Arends S., Brunekreeft K.L., van der Wal V.B., Sietsma J., van Voorst Vader P.C., et al. Prevalence of indolent systemic mastocytosis in a Dutch region. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131 (5): 1429–31.
 17. Klaiber N., Kumar S., Irani A.M. Mastocytosis in Children. *Curr Allergy Asthma Reports* 2017; 17 (11): 80.
 18. Hartmann K., Escribano L., Grattan C., Brockow K., Carter M.C., Alvarez-Twose I., et al. Cutaneous manifestations in patients with mastocytosis: Consensus report of the European Competence Network on Mastocytosis; the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology; and the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137 (1): 35–45.
 19. Méni C., Georgin-Lavialle S., Le Saché de Peufelhous L., Jais J.P., Hadj-Rabia S., Bruneau J., et al. Paediatric mastocytosis: Long-term follow-up of 53 patients with whole sequencing of *KIT*. A prospective study. *Br J Dermatol* 2018; 179 (4): 925–32.
 20. Joachim G. Über Mastzellenleukämien. *Deutsches Archives für Klinische Medizin* 1906; 87: 437.
 21. Azana J.M., Torrelo A., Matito A. Update on Mastocytosis (Part 1): Pathophysiology, Clinical Features, and Diagnosis. *Actas Dermosifiliogr* 2016; 107 (1): 5–14.
 22. Theoharides T.C., Valent P., Akin C. Mast Cells, Mastocytosis, and Related Disorders. *N Engl J Med* 2015; 373 (2): 163–72.
 23. Frieri M., Quershi M. Pediatric Mastocytosis: A Review of the Literature. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol* 2013; 26 (4): 175–80.
 24. Martelli M., Monaldi C., De Santis S., Bruno S., Mancini M., Cavo M., et al. Recent Advances in the Molecular Biology of Systemic Mastocytosis: Implications for Diagnosis, Prognosis, and Therapy. *Int J Mol Sci* 2020; 21 (11): 3987.
 25. Komi D.E.A., Rambasek T., Wöhrl S. Mastocytosis: From a Molecular Point of View. *Clin Rev Allergy Immunol* 2018; 54 (3): 397–411.
 26. Arase N., Wataya-Kaneda M., Murota H., Nakagawa Y., Yamaoka T., Itoi-Ochi S., et al. Genotype and phenotype analysis of patients with pediatric cutaneous mastocytosis, especially wild-type *KIT* patients. *J Dermatol* 2020; 47 (4): 426–9.
 27. Chan I.J., Tharp M.D. Comparison of lesional skin *c-KIT* mutations with clinical phenotype in patients with mastocytosis. *Clin Exp Dermatol* 2018; 43 (4): 416–22.
 28. Ertugrul A., Bostanci I., Kaymak A.O., Gurkan A., Ozmen S. Pediatric cutaneous mastocytosis and *c-KIT* mutation screening. *Allergy Asthma Proc* 2019; 40 (2): 123–8.
 29. Bodemer C., Hermine O., Palmérini F., Yang Y., Grandpeix-Guyodo C., Leventhal P.S., et al. Pediatric mastocytosis is a clonal disease associated with D816V and other activating *c-KIT* mutations. *J Invest Dermatol* 2010; 130 (3): 804–15.
 30. Otani I.M., Carroll R.W., Yager P., Kroshinsky D., Murphy S., Hornick J.L., et al. Diffuse cutaneous mastocytosis with novel somatic *KIT* mutation K509I and association with tuberous sclerosis. *Clin Case Rep* 2018; 6 (9): 1834–40.
 31. Peters F., Fiebig B., Lundberg P., Jaspers N.I., Holzapfel B., Ghadimi M.P., et al. Detection of the Germline *KIT* S476I Mutation in a Kindred with Familial Mastocytosis associated with Gastrointestinal Stromal Tumors. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021; 9 (5): 2123–5.
 32. Li Y., Li X., Liu X., Kang L., Liu X. Genotypic and phenotypic characteristics of Chinese neonates with cutaneous mastocytosis: A case report and literature review. *J Int Med Res* 2020; 48 (9): 300060520952621.
 33. Valent P., Sotlar K., Sperr W.R., Escribano L., Yavuz S., Reiter A., et al. Refined diagnostic criteria and classification of mast cell leukemia (MCL) and myelomastocytic leukemia (MML): a consensus proposal. *Anna Oncol* 2014; 25 (9): 1691–700.
 34. Kristensen T., Vestergaard H., Bindslev-Jensen C., Mortz C.G., Kjaer H.F., Ollert M., et al. Prospective evaluation of the diagnostic value of sensitive *KIT* D816V mutation analysis of blood in adults with suspected systemic mastocytosis. *Allergy* 2017; 72 (11): 1737–43.
 35. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., et al. (eds.). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2008.
 36. Azana J.M., Torrelo A., Matito A. Update on Mastocytosis (Part 2): Categories, Prognosis, and Treatment. *Actas Dermosifiliogr* 2016; 107 (1): 15–22.
 37. Zheng Y., Nong L., Liang L., Wang W., Li T. *De novo* mast cell leukemia without CD25 expression and *KIT* mutations: A rare case report in a 13-year-old child. *Diagn Pathol* 2018; 13: 14.
 38. Matito A., Blázquez-Goñi C., Morgado J.M., Alvarez-Twose I., Mollejo M., Sánchez-Muñoz L., et al. Short-term omalizumab treatment in an adolescent with cutaneous mastocytosis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013; 111 (5): 425–6.
 39. Liu M.M., Kohn L.A., Roach G.D., Sun G., Garcia-Lloret M.I., Butte M.J. Treatment of systemic mastocytosis in an infant with midostaurin. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019; 7 (8): 2929–31.
 40. Czarny J., Lange M., Ługowska-Umer H., Nowicki R.J. Cutaneous mastocytosis treatment: Strategies, limitations, and perspectives. *Adv Dermatol Allergol* 2018; 35 (6): 541–5.

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-139-146

Х-сцепленная агаммаглобулинемия: обзор литературы и клинический случай

Э.К. Мгдсян¹, Д.В. Юхачева¹, Е.А. Малахова¹, Д.Е. Першин¹, А.М. Киева¹, Е.В. Райкина¹, Н.М. Кондратьева², Е.И. Алексеева^{2,3}, Ю.А. Родина¹, А.Ю. Щербина¹

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

²ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

Х-сцепленная агаммаглобулинемия (X-linked agammaglobulinemia, XLA), или агаммаглобулинемия Брутона, – это первичный иммунодефицит, вызванный мутацией в гене, кодирующем тирозинкиназу Брутона (BTK), что приводит к дефекту созревания В-лимфоцитов и, как следствие, к агаммаглобулинемии. Клинически это проявляется рецидивирующими инфекционными эпизодами с раннего возраста. Лечение данного заболевания заключается в регулярной заместительной терапии внутривенным и подкожным иммуноглобулином, что показало свою эффективность во многих мультицентровых исследованиях. В настоящее время это является терапией выбора и значительно улучшает качество жизни пациентов. Тем не менее нередко встречаются случаи отсроченной постановки диагноза и, соответственно, несвоевременного лечения, что приводит к тяжелым повторяющимся инфекциям, а в некоторых случаях – к жизнеугрожающим состояниям. В статье представлены обзор литературы и клинический случай гангренозной эктимы у пациента с XLA. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: первичный иммунодефицит, Х-сцепленная агаммаглобулинемия, BTK, гангренозная эктима

Мгдсян Э.К. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 139–46. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-139-146

X-linked agammaglobulinemia: a review of literature and a case report

E.K. Mgdsyan¹, D.V. Yukhacheva¹, E.A. Malakhova¹, D.E. Pershin¹, A.M. Kievskaya¹, E.V. Raikina¹, N.M. Kondratieva², E.I. Alekseeva^{2,3}, Yu.A. Rodina¹, A.Y. Shcherbina¹

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

²National Medical Research Center for Children's Health of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow

X-linked agammaglobulinemia (XLA), or Bruton's agammaglobulinemia, – is a primary immunodeficiency, caused by defects in the BTK gene encoding Bruton's tyrosine kinase. The BTK defects lead to the arrest of B-lymphocyte development and, as a result, agammaglobulinemia. The disease manifests with recurrent infections starting in infancy. The gold standard of XLA treatment – intravenous or subcutaneous immunoglobulin substitution – proved effective in various multicenter studies and increases the quality of life of XLA patients. However, there are cases of delayed disease verification, and untimely delayed treatment, which leads to severe, recurrent infections and life-threatening conditions. We present a review of the literature and case report of an XLA patient with ecthyma gangrenosum. The patient's parents gave consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: primary immunodeficiency, X-linked agammaglobulinemia, BTK, ecthyma gangrenosum

Mgdsyan E.K., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 139–46. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-139-146

В 1952 г. Огден Брутон описал мальчика 8 лет с особой чувствительностью к бактериальным инфекциям. Пациент страдал рецидивирующими бактериальными инфекционными эпизодами (*Streptococcus pneumoniae*), а при электрофорезе белков сыворотки крови отсутствовали гаммаглобулины [1]. В первом описанном случае Х-сцепленной агаммаглобулинемии (X-linked agammaglobulinemia, XLA) Брутон не только определил связь между чувствительностью к инфекциям и отсутствием иммуноглобулинов в крови, но также впервые применил заместительную

терапию иммуноглобулинами, продемонстрировав ее эффективность [2].

К 2019 г. первичные иммунодефициты (ПИД) уже представляют собой группу из более 500 генетически опосредованных нарушений иммунной системы, которые сгруппированы по основному механизму возникновения каждого заболевания. В классификацию IUIS (International Union of Immunological Societies) включены 10 групп, одна из которых представлена ПИД с дефицитом антителообразования, в которую входит 2 подгруппы – ПИД с полным или частичным отсутствием В-лимфоцитов [3].

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 31.10.2022
Принята к печати 09.01.2023

Контактная информация:

Мгдсян Эдмонд Каренович,
врач-ординатор ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: edmondio100@ya.ru

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 31.10.2022

Accepted 09.01.2023

Correspondence:

Edmond K. Mgdsyan,
a resident at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: edmondio100@ya.ru

В первую подгруппу помимо XLA входят и более редкие аутосомно-рецессивные формы, которые также затрагивают раннее созревание В-лимфоцитов и внутриклеточную сигнализацию и представлены мутациями в генах *IGHM*, *IGLL1*, *CD79A*, *CD79B*, *BLNK*, *PIK3R1* [3]. Аутосомно-доминантная форма агаммаглобулинемии представлена мутациями в гене *TCF3*, кодирующем транскрипционный фактор E47. Причем стоит учесть, что на долю XLA приходится около 85% случаев агаммаглобулинемий [4].

Другую подгруппу составляет общая вариабельная иммунная недостаточность с частичным отсутствием В-лимфоцитов (> 1%), в основе патогенеза которой также лежат нарушение их созревания и дефект синтеза IgG, IgA и/или IgM [3].

Ген тирозинкиназы Брутона (*BTK*) был открыт в 1993 г. независимо друг от друга 2 группами исследователей во главе с S. Tsukada (США, штат Калифорния) и D. Vetrie (Великобритания) [5, 6], определившим первый генетически верифицированный ПИД. *BTK* находится на длинном плече X-хромосомы (Xq21.3–Xq22), включает в себя 19 экзонов и кодирует белок Btk – нерецепторную цитоплазматическую тирозинкиназу семейства Тес. На сегодняшний день насчитывается около 931 различной мутации данного гена [7].

Рисунок 1

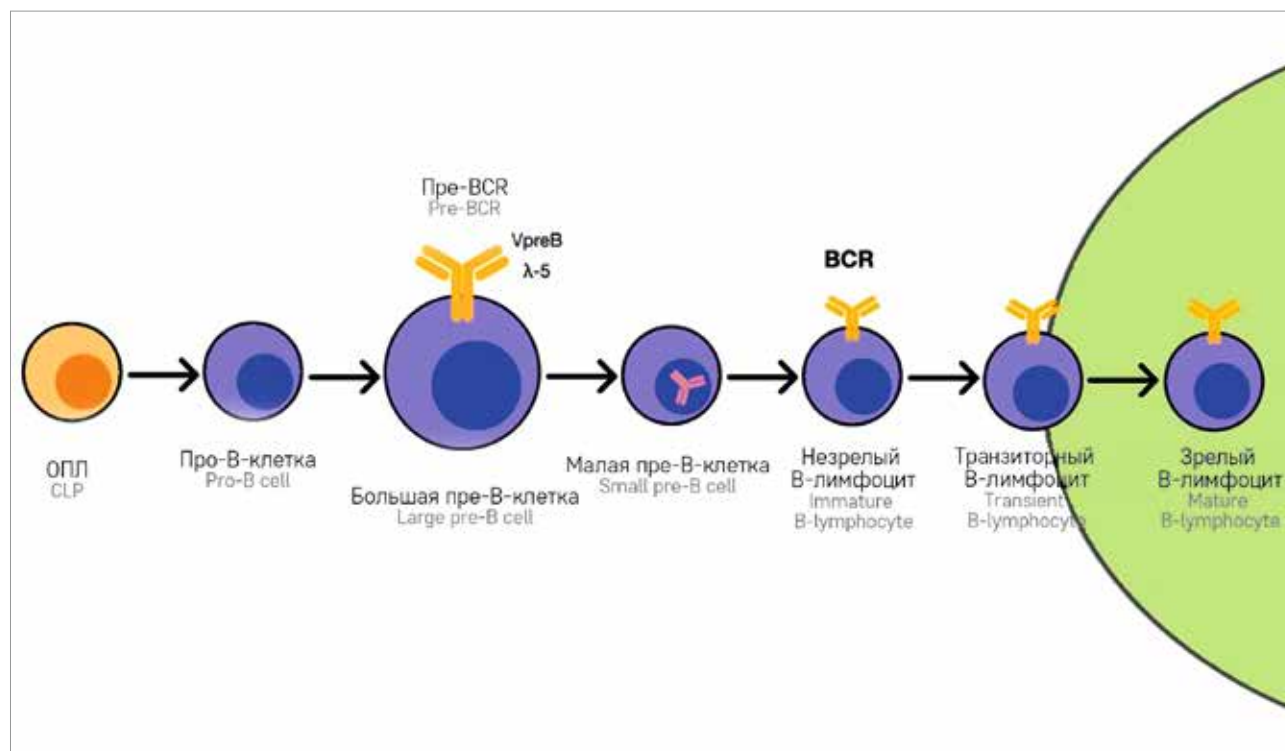
Дифференцировка В-лимфоцитов. BCR – В-клеточный рецептор

Ключевые моменты: переход про-В-клетки в пре-В-клетку с образованием функционального пре-BCR; образование BCR в незрелом В-лимфоците; созревание зрелого В-лимфоцита в лимфоузле с поверхностным IgM

Figure 1

B-lymphocyte development. CLP – common lymphocyte precursor; BCR – B-cell antigen receptor

Key moments: the transition of pro-B-cell to pre-B-cell with the formation of functional pre-BCR; the formation of pre-BCR in immature B-lymphocyte; the maturation of B-lymphocyte in a lymph node with the development of the surface IgM



XLA наследуется X-сцепленно, однако агаммаглобулинемия, вызванная мутацией в гене *BTK*, была описана у женщины из-за феномена неслучайной инактивации X-хромосомы [8].

Патогенетические механизмы X-сцепленной агаммаглобулинемии

В-лимфоциты созревают в костном мозге из клетки общего предшественника лимфоцитов (ОПЛ), которая, в свою очередь, развивается из гемопоэтической стволовой клетки (рисунок 1). Раннее созревание В-клеток в костном мозге сопровождается последовательной реаранжировкой генов иммуноглобулинов, в результате которой образуется BCR, который и будет в дальнейшем распознавать антиген.

Роль Btk в дифференцировке В-лимфоцитов

BCR состоит из вариабельной части в виде иммуноглобулина и инвариантной части в виде гетеродимера CD79a (Igα) и CD79b (Igβ), которые являются сигнало-передающими компонентами. Молекула иммуноглобулина состоит из пары тяжелых (Immunoglobulin heavy chains, IGH) и пары легких (Immunoglobulin light chains, IGL) цепей. Из ОПЛ развиваются 3 группы лимфоидного ряда: первая группа с широким репертуаром дифференцировки – Т-клетки, В-клетки и NK-клетки, вторая группа

дифференцируется только в Т- и В-клетки и третья группа – исключительно в В-клетки. Выработка лимфоцитарных предшественников из мультипотентной клетки-предшественницы сопровождается экспрессией рецептора интерлейкина-7, который индуцируется сигнализацией FLT3 (fms-like tyrosine kinase 3) [9].

Из В-ассоциированных ОПЛ созревает про-В-клетка, которая характеризуется индукцией специфического В-линейного фактора транскрипции E2A и раннего В-клеточного фактора (Early B-cell factor, EBF). Вместе они активируют белки рекомбиназы RAG-1 и RAG-2 для начала VDJ-рекомбинации. Рearанжировка D-сегмента гена в JH-сегмент инициируется в ОПЛ и происходит в ранних про-В-клетках, которые далее переходят в поздние про-В-клетки, где происходит реаранжировка VH в DJH [9]. Удачная реаранжировка VDJH приводит к формированию большой пре-В-клетки с функциональным пре-BCR, на поверхности которого экспрессируется μ -белок сформированной тяжелой цепи иммуноглобулина вместе с суррогатными белками легких цепей VpreB и λ -подобного белка, после чего происходит дальнейшая дифференцировка в зрелые клетки. В костном мозге происходит отрицательная селекция, В-лимфоциты покидают его и попадают в кровотоки [9].

Таким образом, стимуляция пре-BCR активирует цитоплазматические белки, одним из которых является Btk, которые инициируют следующий этап дифференцировки В-клеток.

У пациентов с XLA нарушается дифференцировка именно на этапе про-В-клеток/пре-В-клеток: экспрессия пре-В-клеточного μ -белка тяжелой цепи присутствует, но сами белки намного меньше в размерах по сравнению со здоровым контролем, что указывает на важную роль Btk в пре-В-клеточной пролиферации [10]. Дальнейшее развитие В-лимфоцитов прерывается, что приводит к их отсутствию в периферической крови, а также дефекту антителообразования. Однако некоторые лимфоциты все же проходят стадию про-В-клетки и дальнейшие этапы дифференцировки, что является следствием компенсации других белков семейства Tec [9]. Это объясняет наличие у некоторых пациентов остаточных В-лимфоцитов.

Роль Btk в сигнализации BCR

Как было сказано выше, В-клеточный рецептор состоит из иммуноглобулина и сигнальных белков Ig α и Ig β . Иммуноглобулин распознает антиген, но не может самостоятельно передать сигнал о присоединении его лигандов – эту функцию берут на себя Ig α и Ig β . Каждый из них имеет на своих цитозольных концах иммунорецепторные тирозиновые

активационные мотивы (immunoreceptor tyrosine-based activation motif), которые активируются, когда иммуноглобулин связывается с антигеном [11]. За их фосфорилирование в В-клетках ответственны белки семейства Tec (Fyn, Blk, и Lyn), которые формируют сайты для фосфорилирования других тирозинкиназ, в первую очередь Syk. Известные ко-рецепторы на В-клетках CD19, CD21 и CD81 служат для усиления сигнализации при встрече с антигеном [9].

Активировавшись, Syk фосфорилирует белок BLNK, который связывается с Btk и с фосфолипазой $\text{C}\gamma 2$ (Phospholipase $\text{C}\gamma 2$, PLC $\gamma 2$). Фосфорилирование Btk сопровождается активацией PLC $\gamma 2$. PLC $\gamma 2$ в дальнейшем ответственна за активацию таких путей, как NFkB (Nuclear factor- κ B lymphocytes), NFAT (Nuclear factor of activated T cells), Erk (Extracellular signal regulated kinases), AP-1 (Activation protein-1), которые обеспечивают дальнейшее развитие В-клеток. Ингибирование на любом этапе этого механизма приводит к нарушению пролиферации, функционирования и выживаемости В-лимфоцитов [9, 11].

Клинические аспекты X-сцепленной агаммаглобулинемии

XLA чаще всего дебютирует в младенчестве, что связано с истощением у новорожденных материнских IgG [2]. Ведущими проявлениями в манифестации XLA считаются тяжелые инфекционные осложнения, представленные инфекциями верхних и нижних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и органов слуха [2, 4]. К неинфекционным осложнениям можно отнести артриты и воспалительные заболевания кишечника, которые составляют высокую распространенность, а также иммунную цитопению [4, 12, 13]. Еще одним частым клиническим проявлением является недоразвитие лимфоидных органов (небных миндалин, лимфоузлов) [14].

По данным международного мультицентрового исследования, которое включает 783 пациентов с XLA [4], наиболее частыми проявлениями являются инфекционные осложнения, представленные респираторными инфекциями, большую часть которых составляют синопульмональные поражения, а также отиты, менингиты и гастроинтестинальными инфекциями.

В представленном обзоре O'Toole и соавт. [15] в когорте из 231 пациента регистра USIDNET (United States Immunodeficiency Network, США) наиболее частыми инфекционными осложнениями являются респираторные инфекции (87%), в частности нижних дыхательных путей (55,8%), верхних дыхательных путей (41,6%), синуситы (55,4%), а также отиты (53,7%), инфекции кожи (35,9%), кишечные инфекции (26,4%) и др.

При анализе регистра IPINet (Italian Primary Immunodeficiency Network, Италия), состоящего из 168 пациентов [16], наиболее частыми инфекционными эпизодами являются синуситы (56,7%) и гастроэнтериты (52,4%), несколько меньше частота пневмоний (34,1%), отитов (33,5%) и инфекций кожи (30,5%).

В исследовании, включавшем 60 пациентов из регистра CEREDIH (French National Center for Primary Immunodeficiencies registry), частота инфекционных проявлений представлена гастроэнтеритами (41%), респираторными (32%), кожными (7%) инфекциями и др. [17].

В группе пациентов с XLA ($n = 55$) из регистра НАЭПИД (Россия) также обращает на себя внимание, что их основная масса дебютировала с инфекционных заболеваний (~ 92%), преимущественно органов дыхания [13]. До установления диагноза такие тяжелые инфекции как пневмония перенесли 71%, остеомиелит – 11,3%, сепсис – 9%, инфекции центральной нервной системы – 12% человек. Пансинуситы и средние отиты имели высокую распространенность и частоту рецидивов (до 10–15 в год у отдельных пациентов) [13]. В 21,8% случаев отмечено формирование бронхоэктазов. Стоит отметить, что в большинстве исследований бронхоэктатическая болезнь легких отмечается как наиболее грозное осложнение в долгосрочной перспективе [12–18].

Трудно оценить зависимость от тех или иных инфекционных агентов, однако нельзя не отметить особую чувствительность по отношению к таким агентам как *Haemophilus influenza*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* (таблица 1) [15–17].

Таблица 1
Частота инфекционных агентов при XLA [16]

Table 1
The frequency of infectious agents in XLA patients [16]

Бактериальные возбудители Bacterial pathogens	Вирусы Viruses
<i>Haemophilus influenza</i> – 10,4% <i>Staphylococcus aureus</i> – 10,4% <i>Streptococcus pneumoniae</i> – 7,8% <i>Pseudomonas aeruginosa</i> – 6,1% <i>Staphylococcus epidermidis</i> – 1,7%	<i>Echovirus</i> – 1,7% <i>RSV (Respiratory syncytial virus)</i> – 0,9% <i>CMV (Cytomegalovirus)</i> – 0,9% <i>Influenza A</i> – 0,9% <i>Influenza B</i> – 0,4%
Грибковые возбудители Fungal pathogens	Паразиты Parasites
<i>Pneumocystis jirovecii</i> – 3,0% <i>Aspergillus</i> – 0,4% <i>Candida</i> – 0,4%	<i>Giardia</i> – 4,3%

Диагностика пациентов с XLA основывается на сборе семейного и инфекционного анамнеза, определении концентрации сывороточных иммуноглобулинов, исследовании количества лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии, прове-

дении молекулярно-генетических обследований (таблица 2) [2].

Учитывая, что результаты генетических исследований требуют времени, в качестве дополнительного метода может использоваться определение внутриклеточной экспрессии белка Btk методом проточной цитофлуориметрии [19]. По сравнению с генетическими скрининговые исследования экспрессии различных белков проводятся быстрее, что позволяет раньше начать терапию, а также установить значимость ранее не описанных мутаций. Такой способ диагностики показал свою эффективность у пациентов с другими ПИД [20].

Основным методом лечения пациентов с XLA является заместительная терапия иммуноглобулином, который используется в 2 формах введения – внутривенной и подкожной. Препарат вводится ежемесячно с интервалом 28–32 дня в дозе 0,4–0,8 г/кг, которая подбирается в зависимости от претрансфузионной концентрации IgG у пациента. На фоне такой схемы терапии адекватным претрансфузионным уровнем сывороточного IgG считается 7 г/л и выше – эта цифра является пороговой [13].

При развитии инфекционных осложнений дополнительным методом лечения является назначение парентеральной антибактериальной терапии (АБТ). Важно отметить, что курс АБТ острого инфекцион-

Таблица 2
Основные критерии постановки диагноза XLA [2]

Table 2
Main criteria for XLA verification

Критерий Criterion	Описание Description
Семейный анамнез Family history	Наличие в семье родственников с генетически верифицированной XLA, ранняя гибель мальчиков по материнской линии от инфекционных осложнений The presence of relatives with genetically verified XLA, an early death of boys on the maternal side from infectious complications
Клинические проявления Clinical manifestations	Недоразвитие лимфоидных органов, рецидивирующие инфекции The underdevelopment of the lymphoid organs, recurrent infections
Исследование сывороточных иммуноглобулинов Serum immunoglobulin tests	Значительное снижение IgG, вплоть до агаммаглобулинемии, снижение IgA и/или IgM A significant decrease in the IgG levels, up to agammaglobulinemia, a decrease in the IgA and/or IgM levels
Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови Immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes	Отсутствие или резкое снижение (< 1%) CD19 ⁺ -лимфоцитов A sharp decrease (< 1%) in CD19 ⁺ lymphocytes or their absence
Скрининг на KRECs KRECs screening	< 17 копий/мл < 17 copies/μL
Экспрессия белка BTK BTK protein expression	Снижена (< 0,04) Reduced (< 0.04)
Молекулярно-генетические исследования (секвенирование по Сэнгеру, NGS-панель, MLPA) Molecular genetic testing (Sanger sequencing, NGS panel, MLPA)	Мутации в гене <i>BTK</i> Mutations in the <i>BTK</i> gene

ного процесса при ПИД более длительный, чем у иммунокомпетентных пациентов. Кроме того, выбор АБТ должен проводиться на основании результатов микробиологических исследований из очага инфекции [13].

Исследования последних лет доказывают эффективность и безопасность назначения пациентам с ХЛА профилактической АБТ азитромицином в дозе 10 мг/кг/сут 3 дня в неделю, что сокращает частоту обострений хронических инфекций, снижает потребность в дополнительных курсах АБТ и частоту госпитализаций [21].

Альтернативными методами лечения ПИД считаются трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) и генная терапия. В мировой практике ТГСК рассматривается в качестве терапевтической опции тяжелых случаев ПИД. В отдельных развивающихся странах считается, что ТГСК экономически более выгодная альтернатива долгосрочной дорогостоящей заместительной терапии иммуноглобулином [22]. Однако высокий риск таких осложнений ТГСК, как реакция «трансплантат против хозяина», жизнеугрожающие инфекции, в том числе вирусные, резко снижают частоту применения ТГСК при агаммаглобулинемиях. Это обусловлено тем, что адекватная консервативная терапия обеспечивает удовлетворительное качество жизни пациента и значительно снижает вероятность развития жизнеугрожающих инфекций [13].

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Мальчик В., 10 лет, от неотягощенной беременности и родов. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях. Со слов родителей, в семейном анамнезе по материнской линии несколько случаев гибели мальчиков в младенческом возрасте. В 2 года госпитализирован по месту жительства в связи с жалобами на повышение температуры тела до 40°C, кашель – диагностирована острая деструктивная пневмония слева, экссудативный плеврит слева, проводилось дренирование плевральной полости. Через 2 мес повторная госпитализация с жалобами на фебрилитет, влажный кашель, по данным мультиспиральной компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки – лобарная эмфизема, нарушение проходимости левого главного бронха, по данным ларинготрахеобронхоскопии – гнойный эндобронхит. Выполнена торакоскопическая резекция нижней доли левого легкого. Впоследствии отмечались частые эпизоды фронтита, гайморита, отита.

В возрасте 10 лет отмечается повышение температуры тела до 40°C, проводилась терапия ибупро-

феном, с эффектом. Через несколько дней мама ребенка обратила внимание на красное пятно с темным центром в нижней трети бедра, диаметром до 6 см, в течение нескольких часов на этом месте сформировался язвенный дефект. Родители самостоятельно обратились в приемное отделение по месту жительства, при поступлении в нижней трети голени отмечался участок гиперемии до 8 см в диаметре, с некрозом в центре, в медиальной части лодыжки – аналогичный участок гиперемии до 5 см в диаметре, болезненные при пальпации. Лабораторно определялось повышение С-реактивного белка (С-РБ) до 201,9 мг/л. При поступлении в области нижней трети правого бедра отмечался участок гиперемии до 15 см в диаметре, отечный, с формирующимся некрозом в центре, при пальпации резко болезненный, в области правого голеностопного сустава – аналогичный участок гиперемии до 6 см в диаметре, с отечностью и болезненностью. Лабораторно – повышение ферритина до 282 нг/мл. В течение 3 дней ребенок находился в отделении реанимации и интенсивной терапии. Проводились хирургическая обработка раны, противомикробная (цефепим, ванкомицин, меропенем, линезолид, флуконазол), иммуносупрессивная (дексаметазон, преднизолон), сопроводительная (фраксипарин) терапия и терапия внутривенным иммуноглобулином (ВВИГ).

Далее пациент с подозрением на васкулит переведен в ревматологическое отделение. При поступлении отмечается некротический дефект в области правого бедра 6 × 4 см, в медиальной области лодыжки правой стопы – некротический дефект 3 × 3 см, лабораторно выявлены нейтрофильный лейкоцитоз (лейкоциты до 31,1 тыс/мкл, нейтрофилы до 26,28 тыс/мкл), воспалительная активность в крови (С-РБ до 94 мг/л). По данным мультиспиральной КТ – состояние после лобэктомии, определяется двусторонний гидроторакс, в обоих легких грубые спаечные изменения (рисунки 2). При иммунологическом обследовании выявлено отсутствие CD19⁺-лимфоцитов. Проводились АБТ (линезолид, пиперациллин/тазобактам, меропенем, амикацин), иммуносупрессивная терапия (дексаметазон, преднизолон), на этом фоне отмечалось снижение воспалительной активности (С-РБ 0,27 мг/л), лейкоцитоз до 11,98 тыс/мкл, нейтрофилы до 8,67 тыс/мкл. По данным микробиологического исследования отделяемого из раны выявлен сплошной рост *Pseudomonas aeruginosa* (чувствительна к меропенему, амикацину, гентамицину, тобрамицину, колистину).

Пациент переведен в отделение иммунологии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. При поступлении сохраняются некротические дефекты мягких тканей в области правого бедра и медиальной лодыжки правой стопы, частично покрытые черным струпом

(рисунок 3). В гемограмме, биохимическом анализе крови и коагулограмме все показатели компенсированы, воспалительной активности нет. На фоне отмены глюкокортикостероидов (ГКС) отмечено нарастание воспалительной активности в крови (С-РБ до 38,9 мг/л, ферритин до 74,3 мкг/л, фибриноген до 5,3 г/л). При иммунологическом обследовании выявлено снижение CD3⁺ до 650 кл/мкл, CD3⁺CD4⁺ до 290 кл/мкл, NK-клеток до 5 кл/мкл (на фоне терапии ГКС), отсутствие CD19⁺, количество TREC в норме, KREC отсутствуют. Экспрессия белка Btk в моноцитах снижена (рисунок 4). При исследовании концентрации сывороточных IgA и IgM не детектируются, IgG 10,5 г/л (на фоне трансфузий ВВИГ). При проведении молекулярно-генетического исследования по Сэнгеру в гене *BTK* (NM_000061.3) в 18-м экзоне обнаружена делеция одного нуклеотида, приводящая к сдвигу рамки считывания и стоп-кодону, в гемизиготном состоянии: с.1753del (p.Val585PhefsTer2).

Проводилась противомикробная терапия (меропенем, амикацин), а также отмена ГКС. По данным чувствительности *Ps. aeruginosa* проведена модификация АБТ – меропенем заменен на цiproфлокс-

Рисунок 2

КТ грудной клетки: спаечные изменения в легких

Figure 2

Chest CT: pulmonary fibrosis



Рисунок 3

Некротические дефекты кожи пациента на момент поступления, вызванные *Ps. aeruginosa* (гангренозная эктима)

А – некротический дефект на голени с характерным синее-зеленым струпом; Б – некротический дефект на бедре

Figure 3

Necrotic defects of patient's skin caused by *Ps. aeruginosa* (ecthyma gangrenosum) at the time of his admission to hospital

А – necrotic defect on crus with distinctive blue-green crust; Б – necrotic defect on thigh

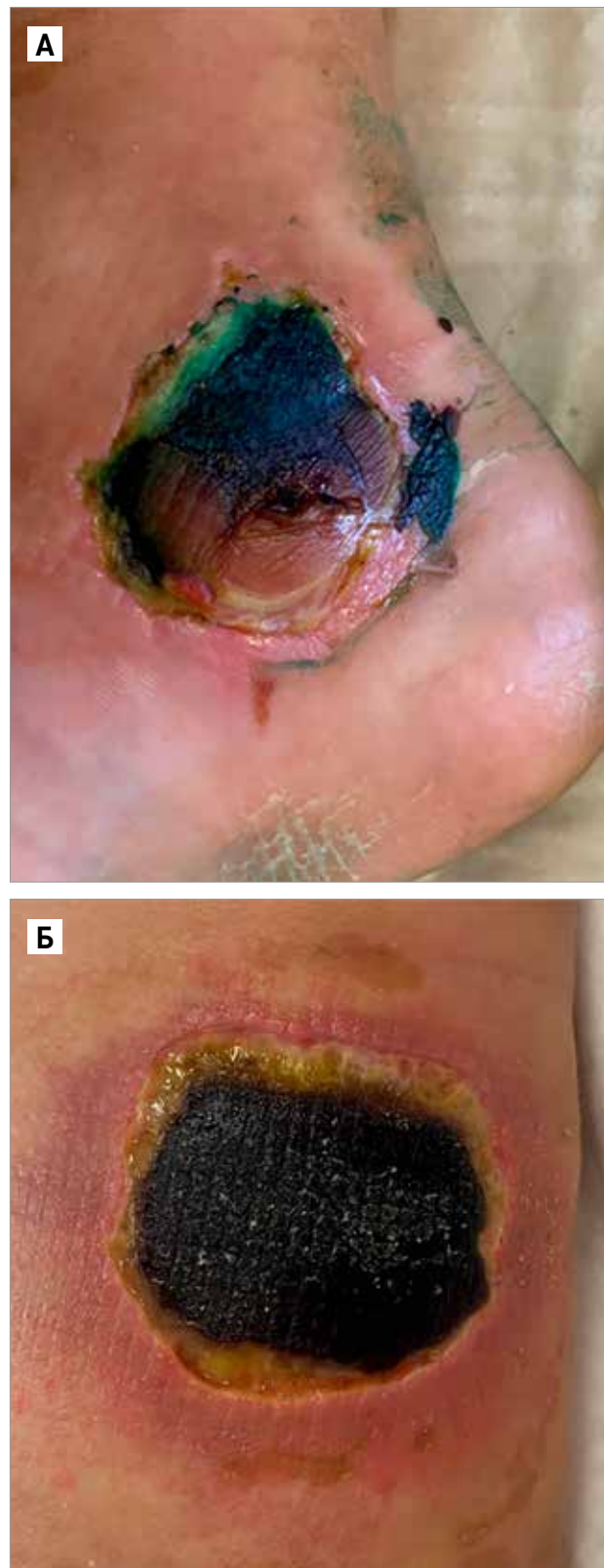
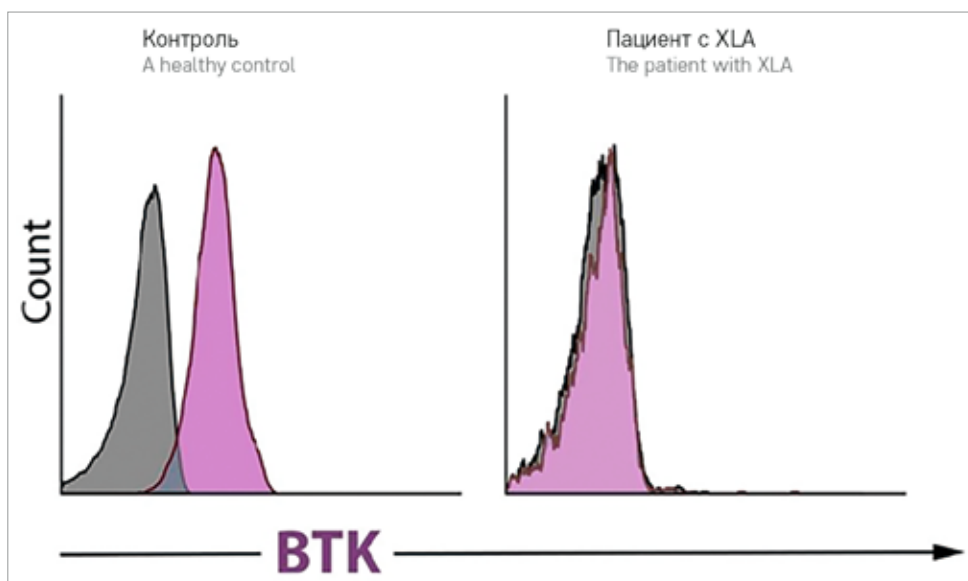


Рисунок 4

Экспрессия белка Btk в моноцитах у пациента с XLA и у здорового контроля по данным проточной цитофлуориметрии. Серым цветом показан изотип-контроль (отрицательный контроль)

Figure 4

The expression of Btk in monocytes in a healthy control and in the patient with XLA according to the flow cytometry data. Iso-type control (negative control) is marked with grey color



сацин, на фоне чего отмечалась отрицательная динамика в виде появления мокнутия ран, в связи с этим ципрофлоксацин и меропенем заменены на цефтазидим + авибактам и полимиксин В. Однако из-за отсутствия значимого эффекта полимиксин В заменен на колистин. По данным повторного микробиологического исследования отделяемого из раневых дефектов микроорганизмы не обнаружены. В течение всего периода госпитализации проводилась ежедневная обработка ран растворами антисептиков и наложении повязок с оксидом серебра и перуанским бальзамом. На фоне проводимой терапии отмечена тенденция к редукции струпа, края раны без воспалительных изменений, пациент выписан на амбулаторный этап долечивания. По рекомендации хирурга запланирована хирургическая коррекция раны через 6 мес.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время частота встречаемости XLA составляет около 1 на 100 000–200 000 человек [12], однако варьирует в зависимости от страны. В России на долю иммунодефицитов с гуморальным дефектом приходится 27% при средней распространенности ПИД в популяции 1,35 случая на 100 000 населения [23]. Ввиду специфической клинической картины и лабораторных признаков верификация диагноза XLA не представляет трудности.

Инфекционные осложнения остаются главной проблемой XLA, однако на фоне регулярной терапии ВВИГ/подкожным иммуноглобулином, а также профи-

лактической АБТ частота инфекционных эпизодов заметно сокращается, предотвращая жизнеугрожающие инфекции [4, 13, 15–18].

В представленном клиническом случае поздняя диагностика и отсутствие заместительной терапии препаратами иммуноглобулина привели к такому грозному осложнению, как гангренозная эктима, что вполне могло быть причиной летального исхода.

Учитывая, что постановка диагноза у большинства пациентов связана с появлением первых инфекционных эпизодов, главным методом ранней диагностики и превентивной терапии как XLA, так и ее осложнений, является введение неонатального скрининга на TREC/KREC, что потенциально будет фармакоэкономически благоприятнее для системы здравоохранения [24].

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Mgdsyan E.K. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9263-6545>
Yukhacheva D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9078-8206>
Malakhova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7334-0706>
Pershin D.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-7209>
Kieva A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2467-2840>
Rodina Yu.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9857-4456>
Raikina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>
Kondratieva N.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4233-5696>
Alekseeva E.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3874-4721>
Shcherbina A.Y. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3113-4939>

Литература

1. Bruton O.C. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952; 9 (6): 722–8.
2. Hans D., Ochs C.I., Smith E., Puck J.M. Primary immunodeficiency diseases: a molecular and genetic approach. 2014. Pp. 299–323.
3. Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Chatila T., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2020; 40: 24–64.
4. El-Sayed Z.A., Abramova I., Aldave J.C., Al-Herz W., Bezrodnik L., Boukari R., et al. X-linked agammaglobulinemia (XLA): Phenotype, diagnosis, and therapeutic challenges around the world. *World Allergy Organ J* 2019; 12 (3):100018
5. Tsukada S., Saffran D.C., Rawlings D.J., Parolini O., Allen R.C., Klisak I., et al. Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell* 1993; 72: 279–90.
6. Vetrie D., Vorechovsky I., Sideras P., Holland J., Davies A., Flinter F., et al. The gene involved in X-linked agammaglobulinaemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases. *Nature* 1993; 361: 226–33.
7. Väliäho J., Smith C.I., Vihinen M. BTKbase: the mutation database for X-Linked agammaglobulinemia. *Hum Mutat* 2006; 27 (12): 1209–17. DOI: 10.1002/humu.20410
8. Takada H., Kanegane H., Nomura A., Yamamoto K., Ihara K., Takahashi Y., et al. Female agammaglobulinemia due to the Bruton tyrosine kinase deficiency caused by extremely skewed X-chromosome inactivation. *Blood* 2004; 103: 185–7.
9. Janeway's Immunobiology. 9th Ed. 2017. Pp.: 281, 295–302, 541.
10. Pal Singh S., Dammeijer F., Hendriks R.W. Role of Bruton's tyrosine kinase in B cells and malignancies. *Mol Cancer* 2018; 17 (1): 57.
11. Никитин Е.А. Передача сигнала через В-клеточный рецептор: механизмы и ингибиторы. *Клиническая онкогематология* 2014; 7 (3): 251–63.
12. Cardenas-Morales M., Hernandez-Trujillo V.P. Agammaglobulinemia: from X-linked to Autosomal Forms of Disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2021; 9 (1): 22–35.
13. Абрамова И.Н. Оценка эффективности и фармакоэкономический анализ заместительной терапии первичных иммунодефицитов с дефектом гуморального звена у детей. Дис. ... канд. мед. наук. М.; 2020. С.: 12–26, 53–55, 81–84.
14. Ochs H.D., Smith C.I. X-linked agammaglobulinemia. A clinical and molecular analysis. *Medicine (Baltimore)* 1996; 75 (6): 287–99.
15. O'Toole D., Groth D., Wright H., Bonilla F.A., Fuleihan R.L., Cunningham-Rundles C., et al. X-Linked Agammaglobulinemia: Infection Frequency and Infection-Related Mortality in the USIDNET Registry. *J Clin Immunol* 2022; 42 (4): 827–36.
16. Lougaris V., Soresina A., Baronio M., Montin D., Martino S., Signa S., et al. Long-term follow-up of 168 patients with X-linked agammaglobulinemia reveals increased morbidity and mortality. *J Allergy Clin Immunol* 2020; 146 (2): 429–37.
17. Raccoud O., Mahlaoui N., Moshous D., Aguilar C., Neven B., Lanternier F., et al. Current Spectrum of Infections in Patients with X-Linked Agammaglobulinemia. *J Clin Immunol* 2021; 41 (6): 1266–71.
18. Shillitoe B.M.J., Gennery A.R. An update on X-Linked agammaglobulinemia: clinical manifestations and management. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2019; 19 (6): 571–7.
19. Ma C.S., Tangye S.G. Flow Cytometric-Based Analysis of Defects in Lymphocyte Differentiation and Function Due to Inborn Errors of Immunity. *Front Immunol* 2019; 10: 2108. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02108
20. Першин Д.Е., Лодоева О.Б., Фадеева М.С., Мерсиянова И.В., Хорева А.П., Владимиров И.С. и др. Разработка метода диагностики синдрома Вискотта–Олдрича путем оценки экспрессии белка WASP с использованием проточной цитофлуориметрии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2020; 19 (2): 141–51.
21. Milito C., Pulvirenti F., Cinetto F., Lougaris V., Soresina A., Pecoraro A., et al. Double-blind, placebo-controlled, randomized trial on low-dose azithromycin prophylaxis in patients with primary antibody deficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2019; 144 (2): 584–93.e7. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.01.051
22. Swaminathan V., Uppuluri R., Patel S., Melarcode Raman K., Ravichandran N., Jayakumar I., et al. Treosulfan-based reduced toxicity hematopoietic stem cell transplantation in X-linked agammaglobulinemia: A cost-effective alternative to long-term immunoglobulin replacement in developing countries. *Pediatric Transplant* 2020; 24 (1): E13625.
23. Мухина А.А., Кузьменко Н.Б., Родина Ю.А., Кондратенко И.В., Бологов А.А., Латышева Т.В. и др. Характеристика пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями в Российской Федерации: от рождения до старости. *Педиатрия* 2019; 98 (3): 24–31.
24. Корсунский И.А. Ранняя диагностика иммунодефицитных состояний у детей: клинические и лабораторные аспекты. Дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2019. С. 40–3.

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-147-151

Сердечная недостаточность как проявление острого лимфобластного лейкоза

Л.Х. Андержанова¹, Н.А. Рыбалко¹, М.А. Шатский², Е.А. Тихомирова¹, Н.В. Мякова¹¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва²ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

Клинически значимая инфильтрация миокарда бластными клетками при остром лейкозе встречается редко. Частота поражения сердца при онкогематологических заболеваниях у детей неизвестна. В данной статье представлено описание клинического случая пациентки 8 лет с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом с сердечной недостаточностью, которая разрешилась на фоне специфической терапии злокачественного заболевания. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: острый лейкоз, инфильтрация бластными клетками, дети, сердечная недостаточность

Андержанова Л.Х. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 147–51. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-147-151

Heart failure as a manifestation of acute lymphoblastic leukemia

L.Kh. Anderzhanova¹, N.A. Rybalko¹, M.A. Shatsky², E.A. Tikhomirova¹, N.V. Myakova¹¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow²The Morozov Children's Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow

Clinically significant myocardial infiltration by blast cells is a rare occurrence in acute leukemia. Heart failure rate in children with hemato-oncological diseases is unknown. Here we report a clinical case of an 8-year-old female patient with B-cell acute lymphoblastic leukemia as well as heart failure that resolved during specific therapy for the cancer. 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 leukemia, blast cell infiltration, children, heart failure

Anderzhanova L.Kh., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 147–51. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-147-151

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 21.11.2022
Принята к печати 13.01.2023

Контактная информация:

Андержанова Лилия Халитовна, врач-гематолог отделения онкогематологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: anderliliya@gmail.com

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 21.11.2022

Accepted 13.01.2023

Correspondence:

Lilia Kh. Anderzhanova, a hematologist at the Oncohematology 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., Moscow 117997, Russia
E-mail: anderliliya@gmail.com

Клиническая картина острого лейкоза (ОЛ) в дебюте заболевания в большинстве случаев обусловлена инфильтрацией костного мозга (КМ) опухолевыми клетками и наличием экстрамедуллярных очагов поражения: гепатоспленомегалии, лимфаденопатии, поражением центральной нервной системы (ЦНС), инфильтрацией почек, объемным образованием средостения (часто при Т-клеточном остром лимфобластном лейкозе). Для ОЛ характерны также сердечно-сосудистые осложнения, которые могут быть следствием как самого заболевания, так и анемии, токсичности проводимой химиотерапии и вторичных инфекций [1]. Непосредственное поражение сердца бластными клетками при ОЛ встречается редко и может представлять собой перикардиальный выпот с бластными клетками, инфильтрацию миокарда или опухолевый тромбоз коронарных артерий [2]. При опухолевом поражении

сердца повышается риск развития сердечно-сосудистой недостаточности, нарушений проводимости, ишемии миокарда, тампонады сердца, перикардита, миокардита. Иная возможная причина сердечно-сосудистых изменений при ОЛ – это активная продукция провоспалительных цитокинов [3, 4], в частности фактора некроза опухоли-альфа и интерлейкина-6, что может привести к иммуноопосредованному повреждению миокарда и снижению его сократительной способности [5].

Клинические проявления поражения сердца при течении ОЛ встречаются редко. Однако при аутопсии инфильтрация бластами сердца – достаточно частая находка [6–8]. Sumners и соавт. при проведении аутопсии обнаружили, что у 44% (51/116) умерших детей с ОЛ сердце было вовлечено в опухолевый процесс [6]. В 1968 г. в The American Journal of Cardiology было опубликовано крупное исследо-

вание, где описаны результаты аутопсии 420 пациентов с ОЛ – лимфобластным и миелобластным. У 69% пациентов были выявлены инфильтрация бластными клетками и геморрагическое пропитывание миокарда. Чаще всего наблюдалась инфильтрация перикарда (39%) и левого желудочка (ЛЖ) (36%). В то же время только у 4% умерших были клинические и инструментальные признаки патологии сердечно-сосудистой системы при жизни [7]. В исследовании Sumners и соавт. клинические проявления сердечной дисфункции также были зарегистрированы лишь у единичных пациентов [6]. В литературе описаны случаи прижизненно выявленного поражения сердца при лейкозе, которые подтверждались биопсией или достигнутой положительной динамикой на фоне системной противоопухолевой терапии [9–11]. Во всех случаях отмечались клинические признаки сердечной недостаточности, изменения на электрокардиографии (ЭКГ), эхокардиографии (Эхо-КГ) и т. д. [9–11]. В исследовании, опубликованном в *British Medical Journal*, у пациентов с ОЛ до проведения противоопухолевой терапии по данным Эхо-КГ было выявлено, что объем ЛЖ был больше, а показатель глобальной продольной деформации ЛЖ был ниже по сравнению с пациентами без ОЛ [12].

Каждый случай поражения сердца при ОЛ с клиническими проявлениями представляет особый интерес и требует дифференциальной диагностики. В настоящее время не существует определенных руководств по лечению осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы при опухолевом поражении. Терапия аналогична таковой у пациентов в общей популяции [13]. Поэтому анализ данного клинического случая заслуживает нашего внимания.

В данной статье представлено описание клинического случая пациентки 8 лет с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом с сердечной недостаточностью, которая разрешилась на фоне специфической терапии злокачественного заболевания. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Девочка Б., 8 лет, обратилась в клинику по месту жительства с жалобами на однократную потерю сознания, резкое снижение аппетита, рвоту, вялость.

По данным представленной медицинской документации, у ребенка были диагностированы гидроперикард, двухсторонний плеврит, бронхопневмония. На Эхо-КГ отмечалась дилатация ЛЖ, левого и правого предсердий, регургитация на трикуспидальном клапане II степени, на клапане легочной артерии II степени, на митральном клапане I степени,

на аортальном клапане I степени, гипертрофия межжелудочковой перегородки (МЖП) и стенки правого желудочка, полость правого желудочка была уменьшена, снижение сократительной способности миокарда ЛЖ (фракция выброса ЛЖ) до 48–50%, также наблюдался небольшой выпот в полость перикарда, расширена нижняя полая вена.

Из анамнеза известно, что ребенок ранее узкими специалистами не наблюдался, занимался в спортивных секциях, посещал уроки физической культуры в школе. Эхо-КГ ранее не проводилась.

Через 2 нед ребенок поступил в многопрофильную московскую клинику. При осмотре обращали на себя внимание интоксикационный синдром, кожный геморрагический синдром, синдром верхней полой вены (одутловатость лица, усиление венозного рисунка на передней поверхности грудной клетки, отечность верхних конечностей), выраженная отечность нижних конечностей, гепатоспленомегалия (печень + 10 см, селезенка + 5 см из-под края реберной дуги). Одышки в покое не отмечалось, дыхание в легких было жесткое, хрипы не выслушивались. Тоны сердца ритмичные, тахикардия с частотой сердечных сокращений (ЧСС) 114 уд/мин, шум не выслушивался. Других значимых изменений со стороны дыхательной и сердечно-сосудистой систем при физикальном обследовании у пациентки выявлено не было. В гемограмме: эритроциты – $4,21 \times 10^{12}/л$, гемоглобин – 107 г/л, тромбоциты – $35 \times 10^9/л$, лейкоциты – $60,95 \times 10^9/л$, бластные клетки 43%, скорость оседания эритроцитов (по Вестергрену) – 5 мм/ч. В биохимическом анализе крови повышение лактатдегидрогеназы до 2360 д/л, остальные показатели были в пределах нормы. В миелограмме: пунктат КМ богат миелокариоцитами, тотальная инфильтрация КМ лимфобластными клетками типа L1 – 81,8%. Иммунофенотипически бластные клетки соответствуют острому лимфобластному лейкозу, B2-иммуноварианту. Цитогенетических транслокаций не выявлено. При исследовании ликвора: цитоз – 18/мкл, выявлена атипичная популяция клеток – 97% с иммунофенотипом CD19, CD10, CD45. По данным ультразвукового исследования плевральных полостей: гидроторакс справа – 570 мл, слева – 96 мл. Мультиспиральная компьютерная томография грудной клетки: интерстициальный и гидростатический отек легких, двухсторонний гидроторакс, умеренное количество жидкости в перикарде, медиастинальная, аксиллярная лимфаденопатия. На Эхо-КГ отмечались снижение сократительной способности миокарда ЛЖ (по методу Simpson 48%, по методу Teicholz 52%), дилатация обоих предсердий, полость ЛЖ на верхней границе нормы, рестриктивный тип диастолической дисфункции. Также внимание на себя обра-

щала выраженная гипертрофия МЖП – толщина 16 мм при норме 7 мм. Обструкции выводных отделов не наблюдалось, недостаточность митрального клапана II степени, аортального – I степени, незначительное количество жидкости в полости перикарда (рисунок 1).

По данным суточного мониторингирования ЭКГ по Холтеру была диагностирована невыраженная синусовая тахикардия (средняя ЧСС днем 104 уд/мин, средняя ЧСС в ночное время – 94 уд/мин), нарушений проводимости выявлено не было, зарегистрированы 2 суправентрикулярные экстрасистолы. На ЭКГ синусовая тахикардия с ЧСС 103–109 уд/мин, отклонение электрической оси сердца (ЭОС) вправо, ЭКГ-признаки перегрузки обоих предсердий (двугорбый зубец Р во II отведении), нарушение процессов реполяризации в миокарде (отрицательные зубцы Т в отведениях II, III и AVf), увеличение продолжительности скорректированного интервала QTc до 463 мс. На рентгенограмме: сердечная тень расширена, правосторонняя нижнедолевая пневмония, левосторонний гидроторакс. Пациентке был установлен диагноз: острый лимфобластный лейкоз, B2-иммуновариант, ЦНС III, первый острый период. Ребенку была начата терапия согласно протоколу ALL-MB 2015 для промежуточной группы риска. Начат дексаметазон, введена пэгаспаргаза.

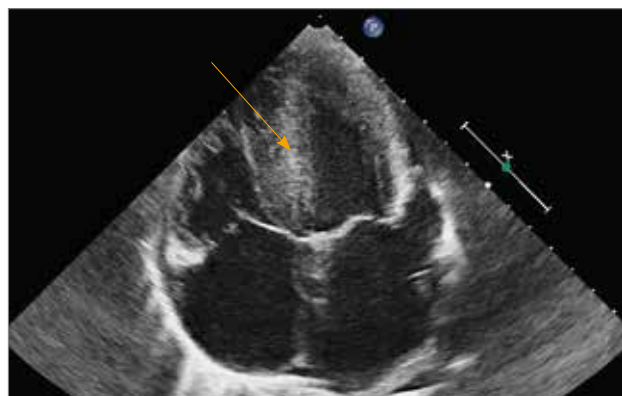
Для продолжения терапии ребенок поступил в НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. На 6-е сутки индукционной терапии проведено обследование. По данным Эхо-КГ было отмечено уже незначительное утолщение МЖП (МЖП 8,8 мм, Z-SCORE: 1,9; задняя стенка ЛЖ 6 мм, Z-SCORE: 0,6), диффузный гипокинез миокарда ЛЖ на базальном и среднем уровнях, глобальная систолическая функция ЛЖ снижена – 48% по Симпсону, митральная недостаточность ближе к средней степени, резкое увеличение левого

Рисунок 1

Эхо-КГ пациентки Б., стрелкой указана выраженная гипертрофия межжелудочковой перегородки (до начала терапии)

Figure 1

An echocardiogram of the patient B. The arrow indicates significant hypertrophy of the interventricular septum (before the start of the treatment)



предсердия, умеренное увеличение правого предсердия и ствола легочной артерии, полость ЛЖ была на верхней границе нормы (конечный диастолический объем индексированный 63 мл/м²). Данных за легочную гипертензию не было. Признаки снижения глобальной систолической функции правого желудочка (TAPSE 14,6 мм, Z-SCORE –3,8, Koestenberger), выпот в полость перикарда (сепарация листков по нижней стенке левого желудочка 3,7 мм, по латеральной – до 7,8 мм). Нарушение диастолической функции по рестриктивному типу.

В сыворотке крови отмечалось выраженное повышение кардиоспецифического маркера NT-proBNP (N-концевой пропептид натрийуретического гормона В-типа) до 2707 пг/мл (норма 0–89 пг/мл, при уровне менее 200 пг/мл – сердечная недостаточность маловероятна). По данным ЭКГ: отклонение ЭОС вправо (угол альфа 113°). Синусовый ритм с ЧСС 67–80 уд/мин. Снижен вольтаж зубцов R в левых грудных отведениях. Изменения конечной части желудочковых комплексов в виде изоэлектричных и низкоамплитудных зубцов Т во всех отведениях, депрессии сегмента ST до 1 мм в отведениях V2–V4. Увеличение продолжительности скорректированного интервала QTc до 490 мс (рисунок 2).

В сыворотке крови электролитных нарушений не было. Выполнено исследование сыворотки крови методом полимеразной цепной реакции на оппортунистические инфекции (аденовирус, цитомегаловирус, вирус Эпштейна–Барр, вирус герпеса человека 6-го типа) – результаты отрицательные. Данные изменения со стороны сердечно-сосудистой системы (физикальные и клинико-лабораторные) были расценены как проявления сердечной недостаточности. Девочка была консультирована кардиологом, установлен диагноз: вторичная кардиомиопатия (рестриктивный фенотип?). Дилатация левого и правого предсердий. Систолическая дисфункция ЛЖ и правого желудочка сердца. Гипертрофия МЖП. Недостаточность митрального клапана II степени. Перикардальный выпот. Сердечная недостаточность IIA степени. Вторичное удлинение интервала QT. Была назначена комбинированная мочегонная терапия (фуросемид, спиронолактон), пропранолол. Продолжена индукция ремиссии: дексаметазон, винкристин.

По данным повторной Эхо-КГ на 13-е сутки индукции значимой динамики не отмечалось. На ЭКГ зарегистрировано выраженное удлинение скорректированного интервала QTc до 520 мс, признаки перегрузки ЛЖ, сохранялись отклонение ЭОС вправо и изменение конечной части желудочковых комплексов с низкоамплитудными зубцами Т в отведениях V5–V6. В сыворотке крови электролитных нарушений не отмечалось. NT-proBNP на 14-е сутки индукции снизился и составил 1684 пг/мл. Клинически само-

чувствие ребенка улучшилось, купировался отечный синдром, в связи с чем был отменен фуросемид. Учитывая сердечную недостаточность, введение даунорубина как потенциально кардиотоксичного химиопрепарата было перенесено с 8-х на 15-е сутки индукции. По данным миелограммы: на 15-е сутки индукции в КМ редукция бластоэ (3,6% и 6% бластных клеток), в ликворе цитоз в норме, бластных клеток нет, печень и селезенка не увеличены, периферической лимфаденопатии не было.

Далее на 22-е сутки терапии по данным Эхо-КГ отмечается выраженная положительная динамика в виде отсутствия дилатации камер сердца, значительного улучшения диастолической функции сердца, улучшения систолической функции (по Тейхольцу 57%, по Симпсону 52%), отсутствия жидкости в полости перикарда и гипертрофии миокарда ЛЖ (толщина МЖП в диастолу 7 мм, задняя стенка ЛЖ 6 мм). На ЭКГ – улучшение процессов реполяризации и отсутствие удлинения интервала QT. Клинических

признаков сердечной недостаточности у девочки не было. На 29-е сутки проведено второе введение даунорубина.

На 35-й день индукции по данным Эхо-КГ отмечается нормализация систолической функции ЛЖ (по Тейхольцу 62%), камеры сердца не расширены, гипертрофии миокарда нет, митральной регургитации нет. На ЭКГ также выявлена положительная динамика в виде отсутствия ранее описанных изменений конечной части желудочковых комплексов, повышения вольтажа комплексов QRS, сохраняется отклонение ЗОС вправо, синусовый ритм, ЧСС в границах возрастной нормы (рисунк 3). Были отменены верошпирон и пропранолол. На 36-е сутки индукции зафиксирована первая клинико-гематологическая, MRD-негативная ремиссия острого лимфобластного лейкоза.

Ребенок продолжил специфическую терапию основного заболевания согласно протоколу. По данным Эхо-КГ в динамике на фоне терапии патологических изменений не отмечалось, камеры были

Рисунок 2

ЭКГ на 6-й день индукции, ЧСС 73 уд/мин

Figure 2

An electrocardiogram (ECG) recorded on Day 6 of the induction treatment. Heart rate: 73 beats per minute (bpm)

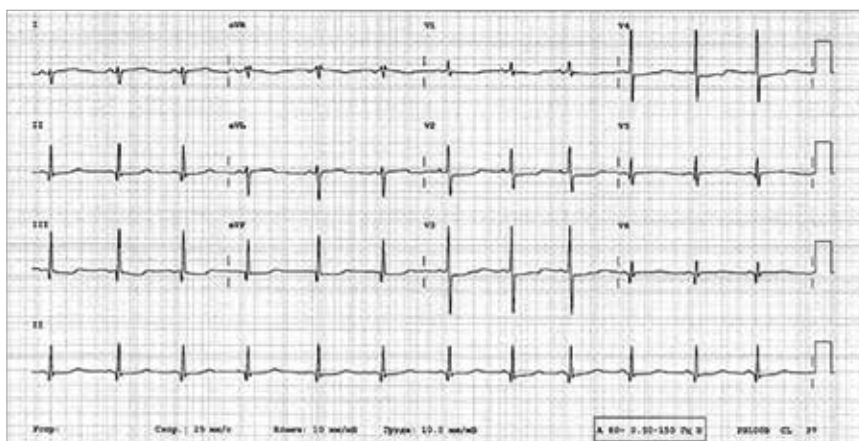
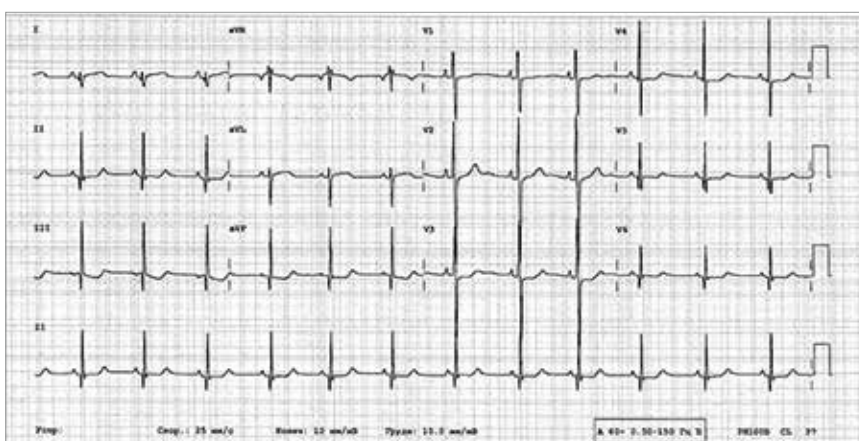


Рисунок 3

ЭКГ на 35-й день индукции, ЧСС 74 уд/мин

Figure 3

ECG on Day 35 of the induction treatment. Heart rate: 74 bpm



нормальных размеров, глобальная систолическая функция ЛЖ оставалась в норме (более 65% по Тейхольцу), гипертрофии миокарда не зафиксировано, отмечалось постепенное снижение кардиомаркера NT-proBNP.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами представлен случай В-клеточного ОЛ со специфическим поражением сердца. Заболевание дебютировало нетипично для ОЛ – с обморока на фоне полного здоровья. При проведении Эхо-КГ обращали на себя внимание выраженная асимметричная гипертрофия миокарда ЛЖ с толщиной МЖП в диастолу 16,2 мм при норме до 7 мм, гипертрофия передней стенки правого желудочка, дилатация обоих предсердий, нарушение систолической и диастолической функций ЛЖ, небольшой перикардальный выпот. На ЭКГ признаки перегрузки предсердий, ишемических изменений миокарда в области нижней стенки ЛЖ и МЖП. Дифференциальный диагноз поражения сердца проводился с первичной гипертрофической кардиомиопатией, течением острого миокардита, вторичной кардиомиопатией (рестриктивной/гипертрофической?) на фоне ОЛ. Однако при беседе с мамой ребенка никаких признаков, указывающих на наличие ранее у девочки симптомов сердечной недостаточности, мы не выявили. Для течения миокардита нетипична столь выраженная гипертрофия миокарда. Учитывая достигнутую положительную динамику на фоне противоопухолевой терапии, мы пришли к выводу, что, вероятнее всего, имела место быть инфильтрация миокарда

бластными клетками. В литературе описаны случаи выраженной гипертрофии миокарда и появления признаков рестриктивной кардиомиопатии как результат лейкемической инфильтрации, подтвержденные биопсией миокарда [14]. Также в литературе мы встретили описание клинического случая лейкемической инфильтрации не только самого миокарда, но и интимы коронарных сосудов с поражением эндотелия и вторичными тромботическими событиями [2].

Данный случай интересен нетипичным дебютом заболевания и клиническим проявлением специфического поражения сердца на фоне ОЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Необходимо учитывать возможное поражение сердечно-сосудистой системы при ОЛ и проводить своевременную диагностику, включая такие рутинные исследования как ЭКГ и Эхо-КГ. Своевременное выявление патологии сердечно-сосудистой системы позволяет выбрать оптимальную тактику лечения пациента и может в том числе влиять на прогноз основного заболевания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Anderzhanova L.Kh. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3247-8688>

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

Литература

- Hunkeler N., Canter C.E. Antemortem diagnosis of gross cardiac metastasis in childhood leukemia: echocardiographic demonstration. *Pediatr Cardiol* 1990; 11 (4): 225–6.
- Cheng H., Feldman T., Butt Y., Chow K.F., Yang X.Y., Bhattacharyya P.K., et al. T-cell prolymphocytic leukemia with extensive cardiovascular infiltrate leading to multiple myocardial infarctions and cardiac death. *Tex Heart Inst J* 2014; 41 (6): 626–30.
- Sanchez-Correa B., Bergua J. M., Campos C., Gayoso I., Arcos M.J., Bañas H., et al. Cytokine profiles in acute myeloid leukemia patients at diagnosis: survival is inversely correlated with IL-6 and directly correlated with IL-10 levels. *Cytokine* 2013; 61(3): 885–91.
- Tsimberidou A.M., Estey E., Wen S., Pierce S., Kantarjian H., Albitar M., et al. The prognostic significance of cytokine levels in newly diagnosed acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2008; 113 (7): 1605–13.
- Kalogeropoulou A.P., Georgiopoulou V.V., Butler J. From risk factors to structural heart disease: the role of inflammation. *Heart Fail Clin* 2012; 8: 113–23.
- Sumners J.E., Johnson W.W., Ainger L.E. Childhood leukemic heart disease. A study of 116 hearts of children dying of leukemia. *Circulation* 1969; 40 (4): 575–81.
- Roberts W.C., Bodey G.P., Wertlake P.T. The heart in acute leukemia. A study of 420 autopsy cases. *Am J Cardiol* 1968; 21 (3): 388–412.
- Klatt E.C., Heitz D.R. Cardiac metastases. *Cancer* 1990; 65 (6): 1456–9.
- Prenner S.B., Franken A.A., Murphy I.G., Mikati I.A. Rapid Reversal of Focal Left Ventricular Hypertrophy and Systolic Dysfunction Resulting From Myocardial Infiltration by Acute Lymphoblastic Leukemia. *Circulation* 2016; 133 (7): 678–9.
- De Lazzari M., Fedrigo M., Perazzolo Marra M., Calabrò F., Tarantini G., D'Amore E.G., et al. Relapsing Leukemia Infiltrating the Heart. *Circ Heart Fail* 2015; 8 (6): 1133–4.
- Barbaric D., Holley D., Lau K.C., McCowage G. It is ALL in the heart: a patient with acute lymphoblastic leukemia and cardiac infiltration at time of diagnosis. *Leuk Lymphoma* 2002; 43 (12): 2417–9.
- Assuncao B.M.B.L., Handschumacher M.D., Brunner A.M., Yucel E., Bartko P.E., Cheng K.H., et al. Acute Leukemia is Associated with Cardiac Alterations before Chemotherapy. *J Am Soc Echocardiogr* 2017; 30 (11): 1111–8.
- Mulrooney D.A., Yeazel M.W., Kawashima T., Mertens A.C., Mitby P., Stovall M., et al. Cardiac outcomes in a cohort of adult survivors of childhood and adolescent cancer: retrospective analysis of the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *BMJ* 2009; 339: b4606.
- Jung M.H., Lee Y.H., Lee K.Y., Jung H.O., Youn H.J. Leukemic infiltration presenting as myocardial hypertrophy after complete remission of acute myeloid leukemia. *Echocardiography* 2017; 34 (1): 136–8.

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 21.01.2023
Принята к печати 20.02.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-152-155

Вторичный синдром Фишера–Эванса у ребенка с синдромом активированной PI(3)kd и развитием лимфомы

Ж.А. Кузьмина, В.В. Фоминых, Н.Н. Коцкая, К.В. Митраков, А.А. Моисеева, О.А. Шве́ц, А.М. Лившиц, М.А. Курникова

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

Контактная информация:

Кузьмина Жанна Андреевна,
канд. мед. наук, старший научный
сотрудник отдела оптимизации лечения
гематологических заболеваний (группа
изучения анемий и миелолипролифераций)
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: zfokina@yandex.ru

Синдром Фишера–Эванса – сочетание аутоиммунной гемолитической анемии и иммунной тромбоцитопении – у детей является редким заболеванием. В детском возрасте он может оказаться одним из первых проявлений первичных иммунодефицитов и синдромов иммунной дисрегуляции. В статье представлен клинический случай пациента, у которого первично был диагностирован синдром Фишера–Эванса, плохо отвечавший на терапию. По результатам генетического обследования у ребенка удалось диагностировать первичный иммунодефицит – синдром активированной PI(3)kd. При дальнейшем наблюдении у пациента развилась лимфома и была проведена радикальная терапия – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: синдром Фишера–Эванса, аутоиммунная гемолитическая анемия, иммунная тромбоцитопения, первичный иммунодефицит, дети

Кузьмина Ж.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 152–5. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-152-155

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 21.01.2023
Accepted 20.02.2023

Secondary Fisher–Evans syndrome in a child with activated PI(3)kd syndrome and lymphoma

Zh.A. Kuzminova, V.V. Fominykh, N.N. Kotskaya, K.V. Mitrakov, A.A. Moiseeva, O.A. Shvets, A.M. Livshits, M.A. Kurnikova

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

Correspondence:

Zhanna A. Kuzminova,
Cand. of Med. Sci., a senior researcher
at the Department of Treatment Optimization
for Hematological Disorders (Anemia and
Myeloproliferation Study Group) at the Dmitry
Rogachev National Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology and
Immunology, Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: zfokina@yandex.ru

Evans syndrome, a combination of autoimmune hemolytic anemia and immune thrombocytopenia, is a rare disease in children. In childhood, it may turn out to be one of the first manifestations of a primary immunodeficiency or an immune dysregulation syndrome. Here we present a clinical case of a patient who was initially diagnosed with Evans syndrome and did not respond well to therapy. Based on the results of genetic testing, the child was then diagnosed with primary immunodeficiency, namely, activated PI(3)kd syndrome. During follow-up, the patient developed lymphoma and had to undergo radical treatment (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation). The patient's parents gave consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: Evans syndrome, autoimmune hemolytic anemia, immune thrombocytopenia, primary immunodeficiency, children

Kuzminova Zh.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 152–5.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-152-155

Синдром Фишера–Эванса (СФЭ) является редким заболеванием, характеризующимся сочетанием аутоиммунной гемолитической анемии и иммунной тромбоцитопении, также может встречаться иммунная нейтропения [1]. Принято разделять СФЭ на идиопатический, который является диагнозом исключения с неизвестной этиологией, и вторичный, развивающийся на фоне другого основного заболевания [2, 3].

Аутоиммунные заболевания многочисленны, в большинстве случаев первопричина неизвестна, а лежащий в основе механизм сложен и включает в себя полигенные факторы [4, 5]. Тем не менее были

выявлены и моногенные аутоиммунные заболевания, часто у детей как изолированные или комбинированные проявления врожденных ошибок иммунитета [6, 7]. На сегодняшний день было показано, что мутации в более чем 450 генах вызывают различные врожденные ошибки иммунитета [7]. Синдром активированной PI(3)kd представляет собой первичный иммунодефицит (ПИД), который возникает в результате мутаций с усилением функции в генах, кодирующих фосфоинозитид-3-киназу δ (PI3K δ) [8]. Пациенты с данным синдромом имеют выраженные аутоиммунные проявления и лимфопролиферацию, для них также характерны высокая частота инфекций

дыхательных путей, часто приводящих к бронхоэктазам, герпесвирусных инфекций, повышенный риск развития лимфом, иногда задержка развития [9, 10].

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Мальчик В.Р., 2010 года рождения, от 3-й беременности, 2-х родов, протекавших без особенностей. Наследственность в семье не отягощена, старшая сестра пациента клинически здорова. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

У ребенка с рождения отмечалась анемия (гемоглобин 85–95 г/л), которая оценивалась как железодефицитная, в первые месяцы жизни была выявлена гепатоспленомегалия. При обследовании исключена болезнь Гоше. В возрасте 8 месяцев впервые появился кожный геморрагический синдром в виде петехиальной сыпи, в анализе крови зафиксированы тяжелая тромбоцитопения (до $3 \times 10^9/\text{л}$), анемия легкой степени (гемоглобин 95 г/л), сохранялась гепатоспленомегалия. В связи с отсутствием лабораторных признаков гемолиза (отсутствие ретикулоцитоза, нормальные значения билирубина, лактатдегидрогеназы) анемия продолжала трактоваться как железодефицитная. Тромбоцитопения расценена как острая иммунная, проведено лечение внутривенным иммуноглобулином и преднизолоном в дозе 3 мг/кг/сут в течение 2 нед. На фоне терапии был достигнут полный ответ по тромбоцитопении.

Через 1 мес после завершения терапии преднизолоном зафиксировано повторное снижение тромбоцитов и гемоглобина (до 43 г/л). Анемия расценена как постгеморрагическая, признаков гемолиза не было. Выполнена заместительная трансфузия эритроцитарной массой и повторно назначен преднизолон 2 мг/кг/сут. На фоне терапии получен частичный ответ (тромбоциты повысились до $87\text{--}141 \times 10^9/\text{л}$).

В возрасте 2 лет впервые зафиксировано развитие аутоиммунной гемолитической анемии (гемоглобин 65 г/л, ретикулоцитоз, положительная прямая проба Кумбса) и иммунной тромбоцитопении (до $32 \times 10^9/\text{л}$). Проведено лечение в составе внутривенного иммуноглобулина и глюкокортикостероидов (ГКС) с получением частичного ответа (гемоглобин 113 г/л, тромбоциты $132 \times 10^9/\text{л}$).

В возрасте 2 лет 1 месяца ребенок впервые консультирован и обследован в условиях отделения дневного стационара ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, где был установлен диагноз: СФЭ (идиопатический). При иммунологическом обследовании значимых отклонений выявлено не было, дубль-негативные Т-лимфоциты

(TCR $\alpha\beta$ ⁺CD3⁺CD4⁺CD8⁺) составляли 1,53%. Проведено генетическое исследование (секвенирование по Сэнгеру) – мутаций в генах *FAS*, *KRAS*, *NRAS* не обнаружено. За время наблюдения в отделении отмечалось ухудшение состояния в виде тяжелой тромбоцитопении (до $0 \times 10^9/\text{л}$) с развитием кишечного кровотечения и анемии (гемоглобин 60 г/л). Назначена пульс-терапия солу-медролом в дозе 10 мг/кг/сут в течение 4 дней для купирования острого состояния и затем лечение продолжено преднизолоном в дозе 2 мг/кг/сут в течение 2 нед.

Далее ребенок наблюдался по месту жительства, проводились попытки отмены преднизолона, однако быстро развивался рецидив СФЭ и вновь требовалось назначение или увеличение дозы ГКС, максимальный период ремиссии без ГКС составил 4–5 мес.

В возрасте 7 лет пациент повторно был направлен на консультацию в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Ребенок приехал на консультацию через 1 мес от последнего рецидива СФЭ на фоне приема ГКС (доза составляла 0,45 мг/кг/сут). По данным проведенного обследования (таблица 1) было выявлено, что на длительной терапии ГКС у пациента сохраняется течение компенсированного гемолиза. Была инициирована терапия ритуксимабом в качестве 2-й линии.

Выполнено 4 введения ритуксимаба в дозе 375 мг/м² с интервалом 1 нед. Был получен полный ответ и удалось полностью отменить ГКС, однако при этом сохранялась выраженная гепатоспленомегалия.

Пациент был направлен на генетическое исследование методом NGS, таргетная панель «Иммунологическая». По результатам данного обследования в гене *PIK3CD* выявлена патогенная мутация в гетерозиготном состоянии (таблица 2). В связи с обнаружением молекулярного дефекта ребенку было выполнено комплексное иммунологическое обследование, инструментальное обследование (компьютерная томография, магнитно-резонансная томография) для определения возможных сопутствующих поражений внутренних органов и оценки лимфопролиферативного синдрома.

В результате обследования, учитывая клиническую картину (аутоиммунные осложнения: СФЭ, лимфопролиферативный синдром), лабораторные показатели (снижение TREC до 340 копий на 10^5 лейкоцитов при норме 470–4100), данные визуализации (мелкоочаговое образование в печени), обнаружение патогенной мутации гена *PIK3D*, пациенту был установлен диагноз: первичный комбинированный иммунодефицит – синдром активированной PI(3)kd с развитием мультиорганных аутоиммунных осложнений (вторичный СФЭ, лимфопролиферативный синдром).

Была инициирована терапия ингибитором mTOR-киназы сиролимусом в дозе 2 мг/сут и, учитывая сохранение лабораторных признаков гемолиза, проведен повторный курс ритуксимаба №4 одновременно с приемом сиролимуса.

Оценка ответа на терапию через 6 мес выявила наличие лекарственной токсичности сиролимуса в виде колита, а также отсутствие полного контроля над заболеванием (сохранялись рецидивы цитопений, требующие повторных введений ритуксимаба), однако уменьшились проявления лимфопролиферативного синдрома. Проведена смена иммуносупрессивной терапии на микофенолата мофетил (ММФ). На фоне терапии ММФ также сохранялись признаки компен-

сированного гемолиза (ретикулоцитоз), отмечались эпизоды легкой тромбоцитопении (до $100 \times 10^9/\text{л}$), проводились повторные введения ритуксимаба.

В возрасте 9 лет 10 месяцев у пациента отмечено ухудшение состояния в виде появления эритематозной сыпи на коже лица, заподозрена злокачественная лимфопролиферация (по данным мультиспиральной компьютерной томографии выявлены очаги в печени и селезенке, увеличение степени выраженности лимфаденопатии, развитие трехростковой цитопении). Была проведена диагностическая костномозговая пункция, данных за инфильтрацию костного мозга и вирусное поражение не получено, цитогенетических поломок не выявлено.

Выполнена биопсия внутрибрюшного лимфоузла и участка кожи лица. По данным гистологического исследования: ЭБВ-негативное лимфопролиферативное расстройство, неклассифицируемая Т-клеточная лимфома.

Учитывая основное заболевание пациента (лимфома), признаки гемофагоцитоза в костном мозге, паранеопластический процесс (поражение кожи, цитопения), начата специфическая терапия по программе СНОР (циклофосфан, винкристин, дексаметазон). В целях профилактики аутоиммунного гемолиза проводились также введения ритуксимаба, продолжен прием ММФ. Ребенок получил 4 курса специфической терапии, однако после последнего курса наблюдалась отрицательная динамика (вновь появились пятнисто-папулезные элементы на шее и лице, нарастание гепатоспленомегалии, трехростковая цитопения).

Проведена повторная диагностическая биопсия лимфатического узла брюшной полости. Гистологическая картина инфильтрата морфологически и иммунофенотипически идентична результатам первичной биопсии.

Ребенку был проведен 1 блок специфической терапии в составе дексаметазона, гемцитабина, цисплатина. При проведении контрольного обследования не удалось достигнуть сокращения массы опухоли в брюшной полости.

Было принято решение следующим этапом провести аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от 10/10 HLA-совместимого родственного донора (сibling) с

Таблица 1
Результаты проведенного обследования пациента

Table 1
The patient's test results

Показатель Parameter	Результат Value	Референсные значения Reference range
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	147	115–138
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Thrombocytes, $\times 10^9/\text{L}$	160	150–356
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Leukocytes, $\times 10^9/\text{L}$	9,56	6,05–9,85
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$ Neutrophils, $\times 10^9/\text{L}$	7,11	1,5–8,5
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Lymphocytes, $\times 10^9/\text{L}$	1,25	1,5–7
Ретикулоциты, % Reticulocytes, %	2,42	0,2–1,2
Гаптоглобин, г/л Haptoglobin, g/L	0,03	0,3–2
Общий билирубин, мкмоль/л Total bilirubin, $\mu\text{mol/L}$	21,6	1–17
Прямой билирубин, мкмоль/л Direct bilirubin, $\mu\text{mol/L}$	8,7	< 3,4
Лактатдегидрогеназа, Ед/л Lactate dehydrogenase, U/L	186	110–295
IgA, г/л IgA, g/L	0,5	0,9–1,9
IgM, г/л IgM, g/L	2,66	0,8–1,9
IgG, г/л IgG, g/L	11,5	8,7–11,7
IgE, Ед/мл IgE, U/mL	12,1	< 100
Альфа/бета + дубль негативные Т-клетки (CD3 ⁺ TcRab ⁺ CD8 ⁺ CD4 ⁻), % Alpha/beta + double-negative T cells (CD3 ⁺ TcRab ⁺ CD8 ⁺ CD4 ⁻), %	1,44	< 5
Прямая проба Кумбса Direct Coombs test	+++ Обнаружены: IgG – титр 1:100, IgG1 – титр 1:1 Detection of IgG (titer: 1:100), IgG1 (titer: 1:1)	

Таблица 2
Выявленные у пациента генетические варианты

Table 2
Genetic variants identified in the patient

Ген Gene	Транскрипт Transcript	Геном (hg19) Genome (hg19)	CDS, белок CDS, protein	Экзон/ интрон Exon/ intron	Тип варианта Variant type	Зиготность Zygosity	Глубина Depth	ID dbSNP, частота аллеля dbSNP ID, allele frequency	Клиническая значимость варианта Clinical significance of the variant
PIK3CD	NM_005026 ENST00000377346	chr1:9787030 G>A	c.3061G>A p.E1021K	Ex 24	Миссенс Missense	het	74x	rs397518423 gnomAD Exomes:–	Патогенный Pathogenic

использованием костного мозга. Миелоинфузия выполнена в июне 2020 г. (в возрасте 10 лет).

Кондиционирование в составе треоосульфана, флударабина и тиотепа, профилактика острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) – циклоспорин А и ММФ. С +14-го дня у пациента зафиксировано развитие острой РТПХ с поражением кожи III степени, кишечника III степени, печени III степени. Пациенту проводилась 4-компонентная иммуносупрессивная терапия: циклоспорин А, солу-медрол, этанерцепт, руксолитиниб. На фоне проводимой терапии острый процесс купирован.

При контрольной мультиспиральной компьютерной томографии органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза с контрастированием после ТГСК отмечается положительная динамика в виде уменьшения размеров лимфатических узлов грудной и брюшной полости.

Через 2 года от ТГСК состояние пациента стабильное, отсутствуют проявления РТПХ и инфекционные осложнения, сохраняется ремиссия по аутоиммунным осложнениям (СФЭ), лимфопролиферативному синдрому и лимфоме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данный клинический случай показывает, что СФЭ может явиться самой ранней манифестацией

синдромов с иммунной дисрегуляцией, особенно когда цитопения рецидивирующая, резистентная к стандартной терапии. Подчеркнута важность правильной и своевременной лабораторно-инструментальной диагностики, а также генетического обследования для поиска основного заболевания. Внимательное ведение и наблюдение за пациентом необходимо для своевременной постановки основного диагноза и выбора наилучшей тактики терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Kuzminova Zh.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8586-8586>
Fominykh V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2294-0821>
Kotskaya N.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2787-6005>
Mitrakov K.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2010-5534>
Shvets O.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5347-7150>
Moiseeva A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6134-3811>
Livshits A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8545-0507>
Kurnikova M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0900-6874>

Литература

1. Miano M. How I manage Evans syndrome and AIHA cases in children. *Br J Haematol* 2016; 172: 524–34.
2. Кузьмина Ж.А., Пашанов Е.Д., Павлова А.В., Курникова М.А., Мерсиянова И.В., Плясунова С.А. и др. Синдром Фишера–Эванса у детей: анализ генных нарушений и ответа на терапию. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2019; 18 (3): 41–5.
3. Rivalta B., Zama D., Pancaldi G., Facchini E., Cantarini M.E., Miniati A., et al. Evans Syndrome in Childhood: Long term follow-up and the evolution in primary immunodeficiency or rheumatological disease. *Front Pediatr* 2019; 7: 304. DOI: 10.3389/fped.2019.00304
4. Cho J.H., Gregersen P.K. Genomics and the multifactorial nature of human autoimmune disease. *N Engl J Med* 2011; 365 (17): 1612–23.
5. Li Y.R., Zhao S.D., Li J., Bradfield J.P., Mohebnasab M., Steel L., et al. Genetic sharing and heritability of paediatric age of onset autoimmune diseases. *Nat Commun* 2015; 6 (1): 8442.
6. Fischer A., Provot J., Jais J.P., Alcais A., Mahlaoui N.; members of the CEREDIH French PID study group. Autoimmune and inflammatory manifestations occur frequently in patients with primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 140 (5): 1388–93.e8.
7. Tangye S.G., Al-Herz W., Bousha A., Cunningham-Rundles C., Franco J.L., Holland S.M., et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022; 42: 1473–507. DOI: 10.1007/s10875-022-01289-3
8. Michalovich D., Nejntsev S. Activated PI3 Kinase Delta Syndrome: From Genetics to Therapy. *Front Immunol* 2018; 9: 369. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00369
9. Singh A., Joshi V., Jindal A.K., Mathew B., Rawat A. An updated review on activated PI3 kinase delta syndrome (APDS). *Genes Diseases* 2020; 7: 67–74.
10. Audia S., Grienay N., Mounier M., Michel M., Bonnotte B. Evans' Syndrome: From Diagnosis to Treatment. *J Clin Med* 2020; 9 (12): 3851. DOI: 10.3390/jcm9123851

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 31.01.2023
Принята к печати 20.02.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-156-164

Прогрессивная трансформация герминативных центров или нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием? Вопросы дифференциальной диагностики на примере клинического случая

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

Контактная информация:

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

Прогрессивная трансформация герминативных центров (ПТГЦ) – доброкачественная реактивная лимфаденопатия, которая может быть самостоятельным заболеванием или возникать ассоциированно с другими лимфомами, самым частым вариантом из которых является нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием (НЛХЛП). На сегодняшний день окончательно не выяснено, как взаимосвязаны между собой ПТГЦ и НЛХЛП, несмотря на обилие представленных работ на эту тему. ПТГЦ может предшествовать НЛХЛП, возникать с ней синхронно или развиваться после проведенного курса терапии у пациентов с НЛХЛП. Несмотря на схожие клинико-морфологические признаки, подход к лечению и ведению пациентов отличается. В случае НЛХЛП одной из терапевтических опций является проведение химиотерапии, что не показано для пациентов с ПТГЦ. В настоящей статье представлен клинический случай парциального поражения лимфатического узла НЛХЛП, ассоциированной с ПТГЦ, на примере которого будут рассмотрены основные вопросы дифференциальной диагностики ПТГЦ и НЛХЛП. Пациент и его законные представители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: прогрессивная трансформация герминативных центров, нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием, лимфомы, дети

Сенченко М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 156–64. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-156-164

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 31.01.2023
Accepted 20.02.2023

Progressive transformation of germinal centers or nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma? Issues of differential diagnosis: a clinical case

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

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

Correspondence:
Maria A. Senchenko,
a postgraduate student, a junior researcher
at the Department of Pathology of the Dmitry
Rogachev National Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology,
Immunology, Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: mariya.senchenko@fccho-moscow.ru

Progressive transformation of germinal centers (PTGC) is a benign reactive lymphadenopathy, which can be an independent disease or occur in association with other lymphomas, the most common variant of which is nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL). To date, it has not been definitively clarified how PTGC and NLPHL are interconnected, despite the abundance of works presented on this topic. PTGC may precede NLPHL, occur synchronously with it, or develop after a course of therapy in patients with NLPHL. Despite similar clinical and morphological features, the approach to the treatment and management of patients is different. In the case of NLPHL, one of the therapeutic options is chemotherapy, which is not used in patients with PTGC. This article presents a clinical case of partial lymph node lesion of NLPHL associated with PTGC, on the example of which the main issues of differential diagnosis of PTGC and NLPHL will be considered. The patient's parents gave their consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: progressive transformation of germinal centers, nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma, lymphomas, children

Senchenko M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 156–64.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-156-164

Прогрессивная трансформация герминативных центров (ПТГЦ) – это реактивная гиперплазия лимфоидной ткани с преимущественным поражением периферических лимфатических узлов (ЛУ), которая клинически проявляется безболезненной лимфаденопатией и чаще встречается у лиц мужского пола [1–5]. Согласно данным Hansmann и соавт., распространенность ПТГЦ составляет до 4% среди пациентов, которым была выполнена эксцизионная биопсия по поводу длительно текущей лимфаденопатии [5].

Во многих работах была отмечена частая ассоциация ПТГЦ с лимфомами, особенно с нодулярной лимфомой Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием (НЛХЛП). ПТГЦ может предшествовать НЛХЛП, возникать синхронно в пределах одной биопсии или развиваться после перенесенной НЛХЛП. Но в большинстве случаев ПТГЦ является самостоятельным заболеванием и возникает у прежде здоровых людей [2, 4–6].

Схожесть клинико-морфологической картины ПТГЦ и НЛХЛП, а также возможность одновременного развития в пределах одной биопсии приводят к определенным диагностическим трудностям и, следовательно, возможным диагностическим ошибкам, что влечет за собой неправильную тактику ведения пациента.

Таким образом, учитывая важность правильного окончательного диагноза, а также частую ассоциацию представленных нозологических форм, в данной работе будут рассмотрены вопросы дифференциальной диагностики ПТГЦ и НЛХЛП на примере клинического случая ребенка 17 лет с парциальным поражением ЛУ НЛХЛП на фоне предшествующей ПТГЦ. Пациент и его законные представители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Мальчик, 17 лет, обратился к участковому врачу с жалобами на увеличение шейных ЛУ в течение года. При проведении ультразвукового исследования было выявлено увеличение задне-шейного ЛУ слева до 2,5 см и надключичного ЛУ слева до 3,5 см. Также были проведены ультразвуковое исследование органов брюшной полости, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, по результатам которых патологии выявлено не было. После консультации гематолога было рекомендовано проведение эксцизионной биопсии шейно-надключичных ЛУ слева в целях исключения/подтверждения лимфопролиферативного заболевания.

При гистологическом исследовании ЛУ был покрыт тонкой склерозированной соединительнотканной капсулой, его структура на большом протяжении была сохранена, определялись многочисленные различного размера вторичные лимфоидные фолликулы с активными герминативными центрами. Фокально просматривались крупные нодулярные структуры с нарушенной гистоархитектоникой герминативных центров, часть нодулей имели четкую округлую форму с хорошо различимыми краями (*рисунок 1В*). Отдельные нодули не имели четких границ и плавно сливались с окружающими междоулярными/парафолликулярными пространствами (*рисунок 1А*).

Клеточный состав нодулярных структур с хорошо различимыми границами был представлен мелкими лимфоцитами, среди которых определялись дискретно расположенные единичные крупные клетки с типичной морфологией центробластов (*рисунок 1Г*), клетки имели везикулярные ядра и мелкие эозинофильные ядрышки, скудную эозинофильную цитоплазму. Общая гистологическая картина была характерна для ПТГЦ.

Крупные нодулярные структуры со стертыми, плавно переходящими и сливающимися с междоулярными/парафолликулярными пространствами границами, имели в своем составе мелкие лимфоциты и единичные крупные клетки с признаками атипии, морфологически схожие с центробластами, также просматривались крупные клетки с морфологией Рорсогн cell, что является характерным для НЛХЛП (*рисунок 1Б*).

При проведении иммуногистохимического (ИГХ) исследования с анти-CD20, BCL2 часть нодулей также имели четкие границы (*рисунок 2Г, Е*), в других определялись размытые края (*рисунок 2А, В*). Клеточный состав нодулярных структур был представлен преимущественно мелкими CD20/IgD-позитивными В-лимфоцитами, отмечалось повышение количества CD3/PD1-позитивных фолликулярных Т-хелперов и их хаотичное расположение в сравнении с вторичными лимфоидными фолликулами, в которых фолликулярные Т-хелперы располагались преимущественно на границе зоны мантии и герминативного центра (*рисунок 3А, Г*). В нодулях со стертыми границами отмечалась тенденция к формированию розеточных структур фолликулярными Т-хелперами вокруг атипичных крупных клеток (*рисунки 2Б, 3А*).

При проведении ИГХ-исследования с анти-CD23 были выявлены единичные резидуальные волокна фолликулярной дендритной сети (ФДК) в пределах нодулярных структур, тогда как в реактивных вторичных лимфоидных фолликулах определялась компактная сеть ФДК (*рисунок 3Б, Д*).

Крупные клетки внутри нодулярных структур были позитивны с анти-CD20, CD79a, PAX-5, OCT2, BOB1, отсутствовала экспрессия EMA, EBER. Отмечалась более яркая экспрессия OCT2/BOB1 крупными клетками с признаками атипии в сравнении с мелкими реактивными В-лимфоцитами.

При реакции с анти-CD38 были выявлены немногочисленные плазматические клетки, которые коэкспрессировали преимущественно IgG, единичные клетки коэкспрессировали IgG4, соотношение IgG/IgG4 составило около 5–10%.

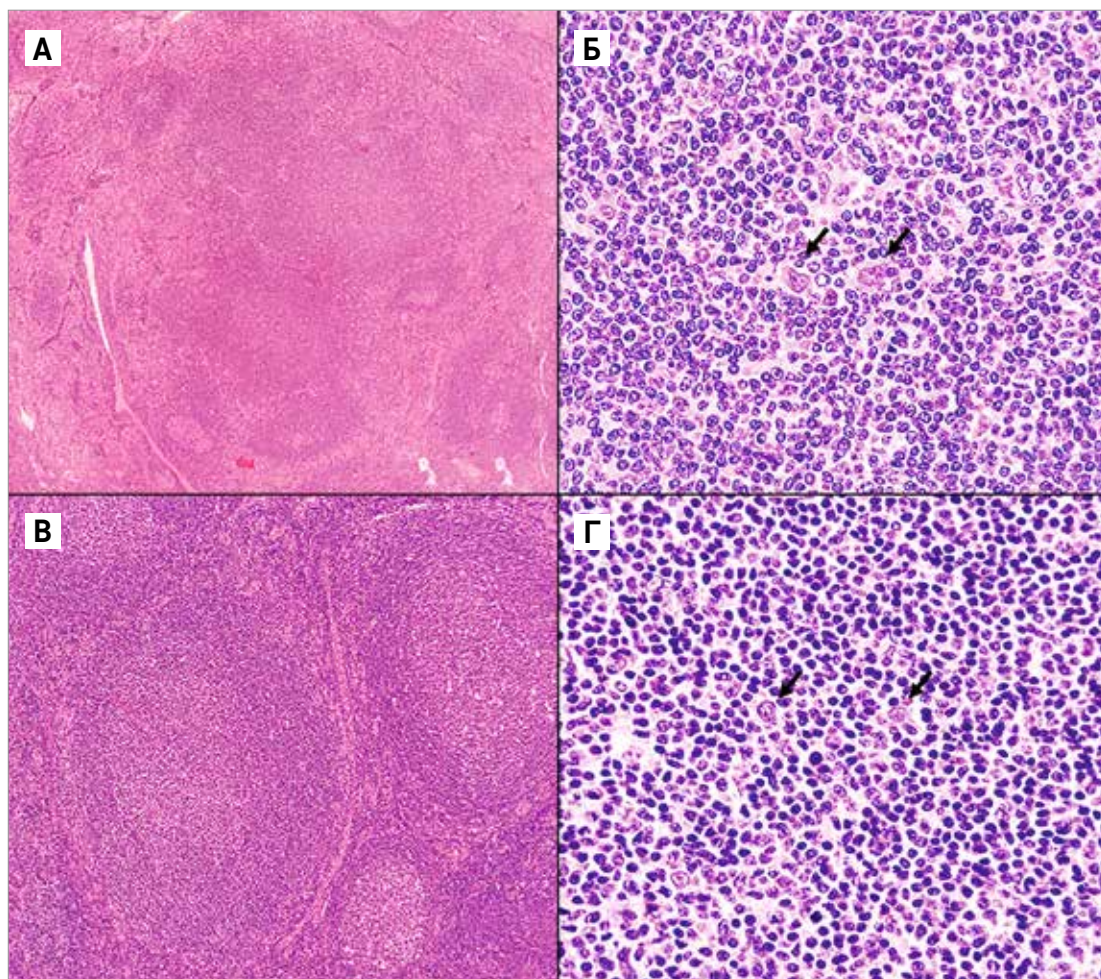
Рисунок 1

Сравнительная характеристика НЛХЛП и ПТГЦ, гистологическое исследование, окраска гематоксилином и эозином

А, Б – морфологические признаки НЛХЛП. Определяются крупные сливающиеся нодулы, границы которых нечетко очерчены, размыты, вокруг нодулей просматриваются мелкие реактивные вторичные лимфоидные фолликулы с активными герминативными центрами (А, $\times 40$). На большом увеличении среди мелких лимфоцитов просматриваются крупные клетки с извитыми, неровными краями и заметными эозинофильными ядрышками – LP-клетки, обозначены стрелками (Б, $\times 400$); В, Г – морфологические признаки ПТГЦ. Слева определяется одиночное крупное нодулярное образование с хорошо различимыми границами. В сравнении с рядом расположенными вторичными лимфоидными фолликулами четкое деление зоны мантии и герминативного центра в нодуле отсутствует вследствие распространения мелких лимфоцитов зоны мантии (В, $\times 100$). На большом увеличении стрелками обозначены крупные клетки с морфологией центробластов (Г, $\times 400$)

Figure 1

Comparative characteristics of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL) and progressive transformation of germinal centers (PTGC), histology, hematoxylin and eosin staining. The upper row is NLPHL, the lower row is PTGC. A, B – morphological signs of NLPHL. There are large, merging nodules, the boundaries of which are indistinctly outlined, blurred. Small, reactive, secondary lymphoid follicles with active, germinal centers are visible around the nodules (A, $\times 40$). At high magnification, large cells with convoluted rough edges and noticeable eosinophilic nucleoli are visible among small lymphocytes – LP cells, indicated by the arrows (B, $\times 400$); B, G – morphological signs of PTGC. On the left, a single, large, nodular formation with well-distinguishable borders is determined. In comparison with the nearby located secondary, lymphoid follicles, there is no clear division of the mantle zone and the germinal center, due to the spread of small lymphocytes of the mantle zone (B, $\times 100$). At high magnification, the arrows indicate large cells with the morphology of centroblasts (G, $\times 400$)



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей статье был рассмотрен клинический случай ПТГЦ с парциальным поражением НЛХЛП у мальчика 17 лет с жалобами на увеличение шейных ЛУ в течение года.

ПТГЦ может возникать как самостоятельное заболевание или быть ассоциированной с другими лимфомами, наиболее частой из которых является НЛХЛП. Возможно развитие ПТГЦ после классиче-

ской лимфомы Ходжкина (кЛХ), фолликулярной лимфомы, описаны единичные случаи развития ПТГЦ после перенесенной Т-клеточной лимфомы [1, 2, 4, 6]. Но наибольший интерес и трудности при постановке диагноза вызывает синхронное развитие ПТГЦ и НЛХЛП в пределах 1 ЛУ, как в представленном нами случае. Такой вариант поражения встречается достаточно часто, так, например, в исследовании Hartmann и соавт., в котором были рассмотрены 160 пациентов с ПТГЦ, синхронное развитие ПТГЦ и НЛХЛП было отмечено у 23 (14,4%) пациентов, тогда как одиночное поражение ПТГЦ отмечалось у 93 (58%), остальные случаи были представлены пациентами с ПТГЦ, у которых лимфопролиферативное заболевание пред-

шествовало развитию ПТГЦ или появилось после [6].

В связи с частым синхронным выявлением ПТГЦ и НЛХЛП в пределах 1 ЛУ рассматривается гипотеза, что ПТГЦ может быть предопухолевым поражением и предшествует развитию НЛХЛП. Однако данное предположение на сегодняшний день не нашло подтверждения ввиду редкого возникновения НЛХЛП у пациентов с ПТГЦ в анамнезе при длительном наблюдении. В работе Hartmann и соавт. среди 160 пациентов с ПТГЦ лишь в 2 случаях впоследствии развилась НЛХЛП [6]. Не было выявлено ни одного случая развития НЛХЛП у пациентов с ПТГЦ в анамнезе в работах Ozkan и соавт. и Kojima и соавт., которые включали 28 (медиана наблюдения 23 мес) и

Рисунок 2

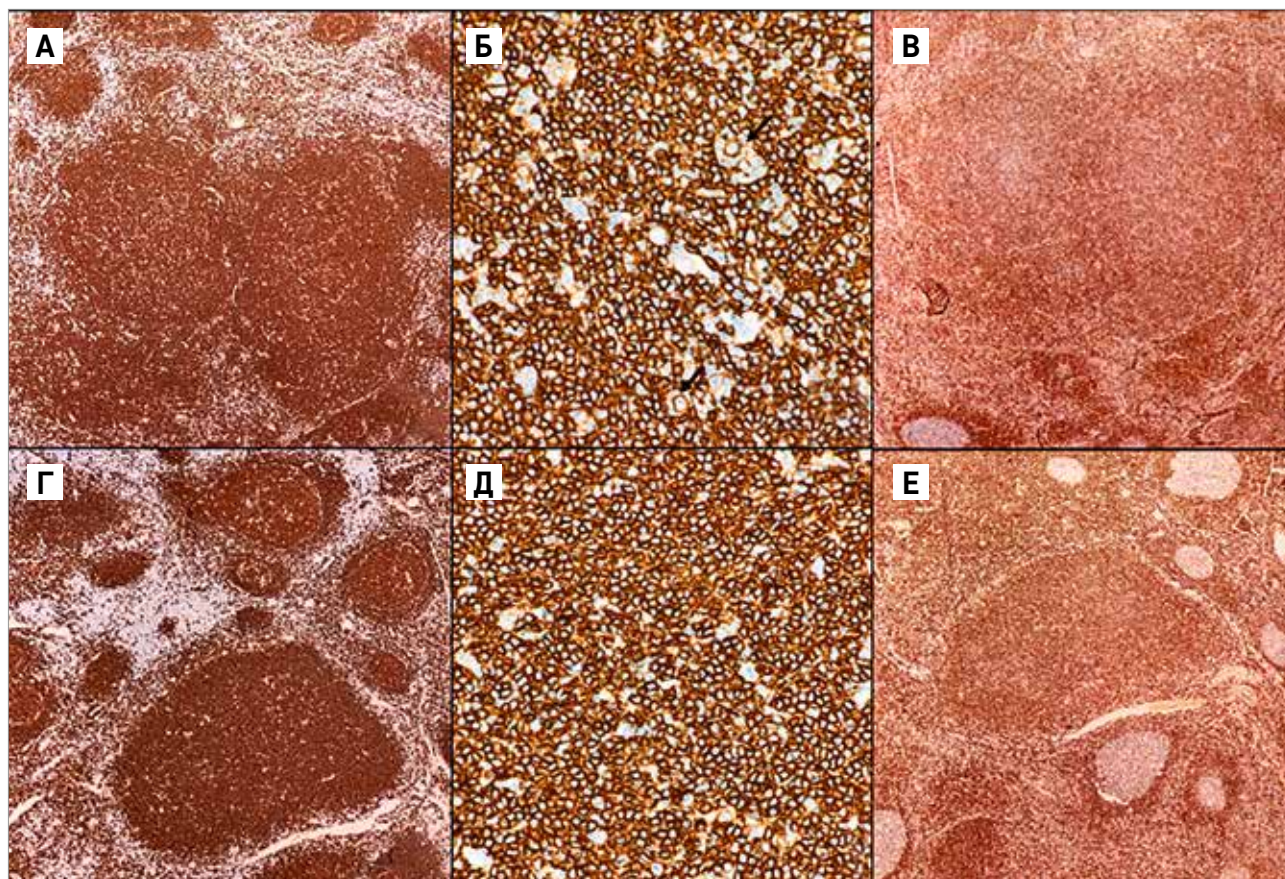
Сравнительная характеристика НЛХЛП и ПТГЦ, ИГХ-исследование (начало)

А, Г – ИГХ-исследование к анти-CD20, $\times 100$. Определяются нодулярные структуры, которые имеют четкие, ровные контуры, хорошо отграниченные от прилежащих межфолликулярных пространств, в сравнении с НЛХЛП, где определяются размытые границы; Б, Д – ИГХ-исследование к анти-CD20, $\times 400$. В НЛХЛП просматриваются крупные LP-клетки, окруженные негативными к анти-CD20 Т-хелперами с формированием розеточных структур, что встречается редко при ПТГЦ и в нашем случае отсутствует. Просматриваются единичные крупные центробласты среди мелких наивных В-лимфоцитов; В, Е – ИГХ-исследование к анти-BCL2, $\times 100$. Определяются нодулярные структуры, в случае НЛХЛП определить границы нодулей является затруднительным, они плавно сливаются с окружающими мелкими, BCL2-позитивными Т-лимфоцитами межфолликулярных зон. В ПТГЦ хорошо просматривается достаточно четкая граница между нодулярной структурой и окружающими межфолликулярными пространствами

Figure 2

Comparative characteristics of NLPHL and PTGC, immunohistochemistry (IHC) (beginning)

А, Г – IHC for anti-CD20, $\times 100$. There are obvious nodular structures, which have clear boundaries, well delineated from the adjacent interfollicular spaces, in comparison with NLPHL, where blurred boundaries are defined; Б, Д – IHC for anti-CD20, $\times 400$. In NLPHL, there are large LP cells surrounded by CD20-negative T-helpers with the formation of rosette structures, which is rare in PTGC and absent in our case. Single large centroblasts are observed among small, naive B-lymphocytes; В, Е – IHC for anti-BCL2, $\times 100$. Nodular structures are visible, in the case of NLPHL, it is difficult to determine the boundaries of the nodules, they merge with the surrounding small, BCL2-positive T-lymphocytes of the interfollicular zones. In PTGC, a fairly clear boundary between the nodular structure and the surrounding interfollicular spaces is well marked



42 (медиана наблюдения 27 мес) пациента соответственно [2, 3].

Среди детской популяции тенденция к развитию НЛХЛП после перенесенной ПТГЦ также не отмечалась. В исследовании Shaikh и соавт., в которое были включены 29 пациентов с ПТГЦ в возрасте от 0 до 18 лет, был выявлен лишь 1 случай развития НЛХЛП спустя 4 года в зоне первичного поражения ПТГЦ, медиана наблюдения 2,8 года [4]. Таким образом, рассмотренные выше единичные случаи развития НЛХЛП у пациентов с ПТГЦ в анамнезе, возможно, могут быть следствием недостаточно полного исследования ткани ЛУ при гистологическом исследовании, в результате чего фокальное парциальное поражение НЛХЛП могло остаться незамеченным, или малого времени наблюдения за пациентами.

Необходимо учитывать тот факт, что ПТГЦ может быть ассоциирована не только с НЛХЛП, но и с другими В- и Т-клеточными лимфомами, а также развиваться в условиях других иммунных расстройств (IgG4-ассоциированные болезни, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, системная красная волчанка и т. д.), что также не соотносится с утверждением о ПТГЦ как возможном предопухолевом процессе для НЛХЛП [2–4, 6–8].

Так или иначе синхронное развитие ПТГЦ и НЛХЛП может вызвать существенные затруднения при постановке диагноза ввиду общих не только клинических, но и гистологических признаков. И ПТГЦ, и НЛХЛП клинически характеризуются длительным, индолентным течением, с медленно прогрессирующим увеличением периферических ЛУ, преимущественно шейных, вторые и третьи по

Рисунок 3

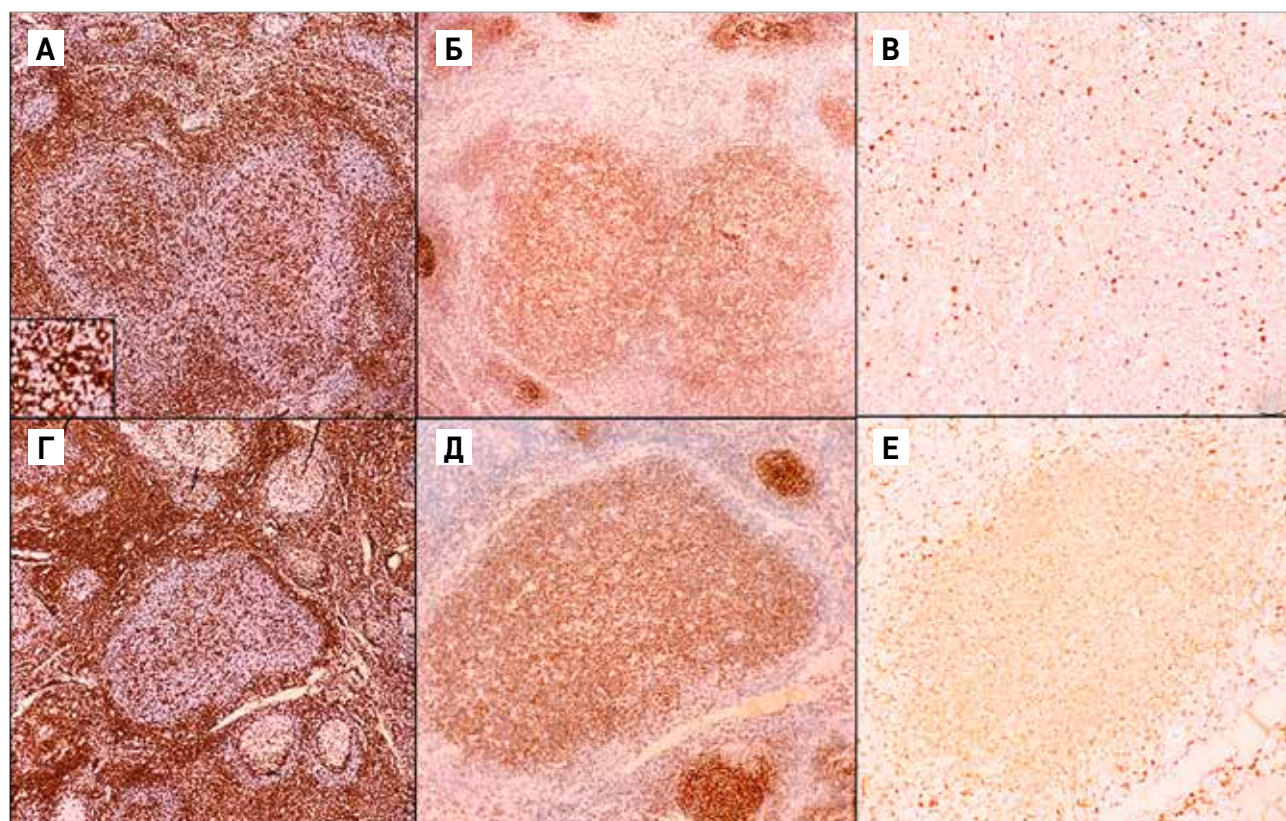
Сравнительная характеристика НЛХЛП и ПТГЦ, ИГХ-исследование (продолжение)

А, Г – ИГХ-исследование с анти-CD3, $\times 100$. Внутри нодулярных структур повышено количество Т-лимфоцитов, а также отмечается хаотичное расположение в сравнении с реактивными вторичными лимфоидными фолликулами; Б, Д – ИГХ-исследование с анти-CD23, $\times 200$. Сеть ФДК стерта, могут определяться единичные волокна, сравните с компактной сетью реактивных лимфоидных фолликулов. Мелкие, наивные лимфоциты зоны мантии позитивны с анти-CD23, обратите внимание также на границы нодулярных структур; В, Е – ИГХ-исследование с анти-ОСТ2, $\times 400$ и $\times 200$ соответственно. В случае НЛХЛП отмечается более яркая экспрессия LP-клетками ОСТ2 в сравнении с мелкими В-лимфоцитами микроокружения, тогда как в нодулях при ПТГЦ крупные ОСТ2-позитивные клетки определяются только лишь на периферии и, наиболее вероятно, представлены реактивными иммунобластами. В центре нодулярных структур также просматриваются позитивные крупные клетки, однако уровень экспрессии слабее

Figure 3

Comparative characteristics of NLPHL and PTGC, IHC (continuation)

А, Г – IHC for anti-CD3, $\times 100$. Inside the nodular structures, the number of T-lymphocytes is increased, and there is also a disordered arrangement in comparison with reactive, secondary lymphoid follicles; Б, Д – IHC for anti-CD23, $\times 200$. The FDC network is erased, single fibers can be determined, compare with a compact network of reactive lymphoid follicles. Small, naive lymphocytes of the mantle zone are positive for anti-CD23, also you can see distinct boundaries of the nodular structures; В, Е – IHC for anti-OCT2, $\times 400$ and $\times 200$, respectively. In the case of NLPHL, there is a brighter expression of OCT2 by LP-cells in comparison with the small B-lymphocytes of background, whereas in the nodules in PTGC, large, OCT2-positive cells are detected only on the periphery and are most likely represented by reactive immunoblasts. Positive large cells are also visible in the center of the nodular structures, however, the expression level is weaker



частоте встречаемости – паховые и подмышечные ЛУ соответственно. Отмечается заметное преобладание среди заболевших лиц мужского пола, соотношение лиц мужского пола к женскому представлено как 3:1 [2–4]. Нехарактерным является повышение температуры или наличие других клинических проявлений, которые относят к В-симптомам. Принимая во внимание схожую клиническую картину, на сегодняшний день единственной возможностью поставить правильный диагноз является биопсия с проведением гистологического и ИГХ-исследований. Однако и на этом этапе существуют определенные диагностические трудности.

Не так давно были выделены 5 паттернов роста ПТГЦ [6], деление которых основано на выраженности стирания границ между герминативным центром и зоной мантии. Стирание границ нарастает от паттерна 1, гистологически слабо отличимого от флоридной гиперплазии лимфоидных фолликулов, к паттерну 5, при котором отмечается тотальное замещение герминативных центров мелкими лимфоцитами зоны мантии, что на светоптическом уровне при малом увеличении создает гистологическую картину первичного лимфоидного фолликула. Данной группой исследователей была статистически доказана более частая встречаемость паттерна 5 в условиях синхронного развития ПТГЦ и НЛХЛП [6], что создает дополнительные трудности при проведении дифференциального диагноза и разграничения ПТГЦ и НЛХЛП вследствие наличия общих гистологических и ИГХ-признаков, таких как:

- увеличение в размерах лимфоидных фолликулов, которые имеют вид нодулярных структур;
- тотальное разрушение герминативных центров вследствие заселения их мелкими лимфоцитами зоны мантии, что придает им вид первичных лимфоидных фолликулов;
- мелкие лимфоциты, заселяющие герминативные центры, при ИГХ-исследовании представлены преимущественно CD20/IgD-позитивными В-лимфоцитами, в меньшем числе фолликулярными CD3/PD1-позитивными Т-хелперами;
- значительное увеличение количества фолликулярных Т-хелперов и их хаотичное расположение в пределах нодулярных структур в сравнении с упорядоченным расположением Т-лимфоцитов преимущественно на границе внутреннего края зоны мантии и герминативного центра.

Несмотря на обилие общих гистологических признаков, при внимательном и детальном рассмотрении можно выделить ряд морфологических и ИГХ-отличий (таблица).

Так, например, в одной из работ было показано, что увеличенные нодулы при НЛХЛП имеют больший

размер в сравнении с нодулями при ПТГЦ, что было статистически подтверждено [6]. В нашем случае отмечалась аналогичная тенденция, нодулярные структуры при НЛХЛП имели более крупный размер в сравнении с нодулями при ПТГЦ. Размеры нодулярных структур при ПТГЦ и НЛХЛП можно косвенно оценить, сравнивая с рядом расположенными реактивными вторичными лимфоидными фолликулами в пределах 1 ЛУ (рисунок 2А, Г).

Кроме относительных размеров нодулярных структур также следует обратить внимание на форму и границы, отделяющие их от междоулярных/парафолликулярных пространств. Нодулы при ПТГЦ имеют округлую форму с ровным, хорошо различимым наружным краем в отличие от НЛХЛП, при которой отмечается полное стирание не только внутреннего края мантии, но и наружного, что придает так называемый изъеденный молью внешний вид, который хорошо заметен уже на светоптическом уровне (рисунок 1А, Б). При проведении ИГХ-исследования с анти-CD20 данный гистологический признак становится еще более заметным (рисунок 2А, Г), также следует обратить внимание на более рыхлое расположение В-лимфоцитов в центре нодулей при НЛХЛП вследствие более выраженной Т-клеточной инфильтрации в сравнении с ПТГЦ (рисунок 3А, Г).

Полезным, но ненадежным гистологическим признаком может быть обнаружение розеточных структур вокруг крупных клеток, которые сформированы фолликулярными Т-хелперами и, следовательно, хорошо выявляются при реакции с анти-CD3/PD1. Розеточные структуры можно встретить во всех случаях НЛХЛП, тогда как в случаях с ПТГЦ они встречаются реже. В ПТГЦ фолликулярные Т-хелперы располагаются вокруг резидуальных центробластов, разрушенных герминативных центров, тогда как в НЛХЛП они плотно окружают неопластические LP-клетки [9–11]. В представленном нами случае розеточные структуры в нодулях, пораженных ПТГЦ, не встречались (рисунки 2Б, Д, 3А, Г).

В отличие от неопластических клеток при КЛХ клетки лимфоцитарного преобладания, или LP-клетки, при НЛХЛП имеют сохранный В-клеточный иммунофенотип, также высказывается предположение о происхождении LP-клеток из активных герминативных центров [12]. Из чего следует наличие общих иммунофенотипических признаков для LP-клеток и резидуальных центробластов, таких как экспрессия CD20, CD79a, яркая экспрессия PAX-5 [1, 10, 13, 14] и ядерная экспрессия BCL6 [14, 15]. Общим признаком также является коэкспрессия факторов транскрипции B0B1, OCT2 [9], однако при НЛХЛП обычно отмечается более яркая экспрессия представленных факторов транскрипции LP-клетками, что выгодно подчеркивает их на фоне

Таблица
Дифференциально-диагностические признаки НЛХЛП и ПТГЦ

Table
NLPHL and PTGC: differential diagnostic features

Признак Feature	НЛХЛП NLPHL	ПТГЦ PTGC
Клиническая презентация Clinical presentation	Чаще болеют лица мужского пола, характерно поражение периферических ЛУ: шейных, паховых, подмышечных Males are more likely to develop the disease, the involvement of peripheral lymph nodes (cervical, inguinal, axillary) is typical	Чаще болеют лица мужского пола, характерно поражение периферических ЛУ: шейных, паховых, подмышечных Males are more likely to develop the disease, the involvement of peripheral lymph nodes (cervical, inguinal, axillary) is typical
Характер заболевания The nature of the disease	Неопластический процесс A neoplastic process	Реактивный процесс A reactive process
Объем поражения ЛУ The extent of the lymph node involvement	Как правило, тотальное или субтотальное поражение Usually total or subtotal involvement	Как правило, фокальное поражение Usually focal involvement
Границы нодулярных структур The boundaries of nodular structures	Края размытые, нечетко очерченные The boundaries are blurred, ill-defined	Нодули имеют хорошо различимую округлую форму с четкими краями The nodules have a well-defined round shape with sharp boundaries
Клеточный состав нодулей Cellular composition of nodules	Мелкие, реактивные CD20/IgD ⁺ В-лимфоциты зоны мантии, CD3/PD1 ⁺ -фолликулярные Т-хелперы Small, reactive CD20/IgD ⁺ B-lymphocytes of the mantle zone, CD3/PD1 ⁺ follicular T-helpers	Мелкие, реактивные, CD20/IgD ⁺ В-лимфоциты зоны мантии, CD3/PD1 ⁺ фолликулярные Т-хелперы Small, reactive, CD20/IgD ⁺ B-lymphocytes of the mantle zone, CD3/PD1 ⁺ follicular T-helpers
Крупные клетки, определяемые внутри нодулярных структур Large cells observed within the nodular structures	LP-клетки: popcorn cell, клетки с морфологией центробластов и иммунобластов с признаками атипичии разной степени выраженности LP cells: popcorn cell, cells with centroblast and immunoblast morphology with atypical features of varying severity	Резидуальные центробласты без признаков атипичии Residual centroblasts without atypical features
Наличие розеточных структур вокруг крупных клеток Rosette structures around large cells	Есть, сформированы CD3, CD5, PD1 ⁺ -фолликулярными Т-хелперами Rosette structures around large cells are present. They are formed by CD3, CD5, PD1 ⁺ follicular T-helpers	Редко могут встречаться, сформированы CD3, CD5, PD1 ⁺ -фолликулярными Т-хелперами Rosette structures around large cells may occur rarely. They are formed by CD3, CD5, PD1 ⁺ follicular T-helpers
Иммунофенотип крупных клеток The immunophenotype of large cells	CD20 ⁺ В-лимфоциты с коэкспрессией BCL6, EMA (50%) Негативный CD10 CD20 ⁺ B-lymphocytes co-expressing BCL6, EMA (50%) CD10-negative	CD20 ⁺ В-лимфоциты с коэкспрессией BCL6, CD10 Негативный EMA CD20 ⁺ B-lymphocytes co-expressing BCL6, CD10 Negative EMA

реактивных мелких В-лимфоцитов зоны мантии (рисунки 3В, Е).

LP-клетки, несмотря на свое происхождение из герминативных центров, негативны при реакции с анти-CD10 и в 50% случаев позитивны при реакции с анти-ЕМА, что отличает их от резидуальных центробластов, которые CD10⁺/ЕМА⁺, данные признаки необходимо учитывать при проведении дифференциальной диагностики [9, 16]. В нашем случае реакция с анти-ЕМА была негативной при позитивном внутреннем контроле в виде реактивных плазматических клеток.

Так как ПТГЦ может возникать в условиях IgG4-ассоциированного заболевания, то высокий уровень IgG4-позитивных плазматических клеток в биоптате ЛУ с высокой долей вероятности исключает НЛХЛП [17]. В нашей работе также было проведено ИГХ-исследование к анти-CD38, IgG, IgG4, по результатам которого выявлены немногочисленные CD38-позитивные плазматические клетки, коэкспрессирующие преимущественно IgG, что позволило исключить развитие ПТГЦ в условиях IgG4-ассоциированного заболевания.

Как уже было сказано выше, важность правильного диагноза обусловлена разной тактикой ведения

пациентов с НЛХЛП и ПТГЦ. Несмотря на индолентное течение НЛХЛП, данное заболевание относится к группе злокачественных лимфопролиферативных заболеваний, во многих лечебных учреждениях на сегодняшний день применяют протоколы терапии, используемые для лечения пациентов с КЛХ, которые включают в себя агрессивную химиотерапию с использованием ДНК-повреждающих агентов, а также лучевую терапию. Данное лечение имеет высокий риск возникновения острых и отдаленных неблагоприятных эффектов, что достаточно часто встречается у детей в связи с длительным периодом наблюдения после проведенной химиотерапии [18, 19]. В случае ПТГЦ, которая рассматривается как доброкачественная реактивная лимфаденопатия, хирургическое вмешательство в объеме эксцизионной биопсии является достаточным.

Стоит отметить, что в детской популяции с НЛХЛП не так давно произошла смена взглядов на подходы к лечению пациентов с ранними стадиями (I–II стадия) НЛХЛП в сторону деэскалации терапии, что связано с индолентным течением заболевания в сравнении с КЛХ и высоким риском развития отдаленных неблагоприятных последствий у детей, которые получили агрессивную химиотерапию в соответствии с прото-

колами, применяемыми при кЛХ [19–21]. На сегодняшний день тактика ведения пациентов с ПТГЦ и больных с IA стадией НЛХЛП среди детей не имеет отличий и включает в себя проведение хирургического лечения в объеме эксцизионной биопсии с дальнейшим динамическим наблюдением [22]. Однако одинаковая тактика терапии не отменяет важности своевременной правильной постановки диагноза ввиду необходимости дообследования пациента при установлении диагноза НЛХЛП с использованием таких методов визуализации, как компьютерная томография с контрастированием и позитронно-эмиссионная томография/компьютерная томография в целях возможного выявления других очагов поражения для точного стадирования и с учетом полученных данных – подбора наиболее оптимального объема терапии.

Важным моментом является необходимость диспансерного наблюдения пациентов со стадией IA в случае достижения полной ремиссии после проведенной эксцизионной биопсии, так как существует риск рецидива НЛХЛП и прогрессии заболевания с

трансформацией в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому [21, 23–26].

Таким образом, необходимо принимать во внимание возможность одновременного развития ПТГЦ и НЛХЛП в пределах 1 ЛУ и при наличии признаков ПТГЦ подвергать тщательному гистологическому исследованию весь объем биоптата с применением ИГХ-исследования в целях достоверного исключения/подтверждения НЛХЛП.

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

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

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

Литература

- Hicks J., Flaitz C. Progressive transformation of germinal centers: Review of histopathologic and clinical features. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2002; 65 (3): 195–202. DOI: 10.1016/S0165-5876(02)00176-3
- Özkan M.C., Özsan N., Hekimgil M., Saydam G., Töbü M. Progressive Transformation of Germinal Centers: Single-Center Experience of 33 Turkish Patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2016; 16: S149–51. DOI: 10.1016/j.clml.2016.03.010
- Kojima M., Nakamura S., Motoori T., Itoh H., Shimizu K., Yamane N., et al. Progressive transformation of germinal centers: A clinicopathological study of 42 Japanese patients. *Int J Surg Pathol* 2003; 11 (2): 101–7. DOI: 10.1177/106689690301100205
- Furqan Shaikh R.G., Ngan B.-Y., Alexander S. Progressive transformation of germinal centers in children and adolescents: an intriguing cause of lymphadenopathy. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60 (1): 26–30. DOI: 10.1002/pbc.24234
- Hansmann M.L., Fellbaum C., Hui P.K., Moubayed P. Progressive transformation of germinal centers with and without association to Hodgkin's disease. *Am J Clin Pathol* 1990; 93 (2): 219–26. DOI: 10.1093/ajcp/93.2.219
- Hartmann S., Winkelmann R., Metcalf R.A., Treetipsatit J., Warne R.A., Natkunam Y., et al. Immunoarchitectural patterns of progressive transformation of germinal centers with and without nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma. *Hum Pathol* 2015; 46 (11): 1655–61. DOI: 10.1016/j.humpath.2015.07.006
- Lim M.S., Straus S.E., Dale J.K., Fleisher T.A., Stetler-Stevenson M., Strober W., et al. Pathological findings in human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Am J Pathol* 1998; 153 (5): 1541–50. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65742-2
- Sato Y., Inoue D., Asano N., Takata K., Asaoku H., Maeda Y., et al. Association between IgG4-related disease and progressively transformed germinal centers of lymph nodes. *Mod Pathol* 2012; 25 (7): 956–67. DOI: 10.1038/modpathol.2012.54
- Nguyen N.L., Ferry J.A., Harris N.L. Progressive Transformation of Germinal Centers and Nodular Lymphocyte Predominance Hodgkin's Disease. *Am J Surg Pathol* 1999; 23 (1): 27–33.
- Good D.J., Gascoyne R.D. Atypical Lymphoid Hyperplasia Mimicking Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009; 23 (4): 729–45. DOI: 10.1016/j.hoc.2009.04.005
- Nam-Cha S.H., Roncador G., Sanchez-Verde L., Montes-Moreno S., Acevedo A., Domínguez-Franjo P., et al. PD-1, A follicular T-cell marker

- useful for recognizing nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2008; 32 (8): 1252–7. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318165b0d6
12. 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
 13. Mason D.Y., Banks P.M., Chan J., Cleary M.L., Delsol G., de Wolf Peeters C., et al. Nodular lymphocyte predominance Hodgkin's disease. A distinct clinicopathological entity. *Am J Surg Pathol* 1994; 18 (5): 526–30. DOI: 10.1097/00000478-199405000-00014
 14. 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
 15. 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
 16. Anagnostopoulos I., Hansmann M.L., Franssila K., Harris M., Harris N.L., Jaffe E.S., et al. European Task Force on Lymphoma project on lymphocyte predominance Hodgkin disease: Histologic and immunohistologic analysis of submitted cases reveals 2 types of Hodgkin disease with a nodular growth pattern and abundant lymphocytes. *Blood* 2000; 96 (5): 1889–99. DOI: 10.1182/blood.V96.5.1889
 17. Kiil K., Bein J., Schuhmacher B., Thurner L., Schneider M., Hansmann M.-L., et al. A high number of IgG4-positive plasma cells rules out nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma. *Virchows Arch* 2018; 473 (6): 759–64. DOI: 10.1007/s00428-018-2460-8
 18. Aguilera D.G., Vaklavas C., Tsimberidou A.M., Wen S., Medeiros L.J., Corey S.J. Pediatric therapy-related myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia: the MD Anderson Cancer Center experience. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009; 31 (11): 803–11. DOI: 10.1097/MPH.0b013e3181ba43dc
 19. 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
 20. Nogová L., Reineke T., Brillant C., Sieniewski 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
 21. 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
 22. 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
 23. Couronné L., Schneider P., Picquenot 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
 24. 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
 25. 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
 26. 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

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-165-177

Диагностическое иммунофенотипирование острых лейкозов. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей

А.М. Попов¹, Т.Ю. Вержбицкая², Л.В. Мовчан³, И.А. Дёмина¹, Е.В. Михайлова¹,
А.А. Семченкова¹, Ж.В. Пермикин², Т.В. Шман³, А.И. Карачунский¹, Г.А. Новичкова¹

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

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница №1», Екатеринбург

³ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Республика Беларусь, Минск

На сегодняшний день данные иммунофенотипирования используются для диагностики острых лейкозов (ОЛ), стратификации пациентов в рамках крупных многоцентровых исследований и мониторинга минимальной остаточной болезни. Необходимым условием эффективной диагностики методом проточной цитометрии является разработка единого подхода к подбору комбинаций антител, методике пробоподготовки, настройкам проточного цитометра и анализу данных. Наличие в Российской Федерации и Республике Беларусь оригинальных протоколов терапии ОЛ диктует необходимость разработки единых алгоритмов цитометрической диагностики. Ранее нашей группой был опубликован стандарт диагностики острого лимфобластного лейкоза. В данной работе представлен обновленный стандарт проведения инициального цитометрического исследования, который мы рекомендуем к применению при всех вариантах ОЛ. Разработанный российско-белорусской кооперативной группой по диагностике ОЛ у детей гармонизованный подход включает рекомендации по пробоподготовке, настройке проточного цитометра, анализу и интерпретации цитометрических данных, формату заключения по результатам исследования.

Ключевые слова: острый лейкоз, проточная цитометрия, иммунофенотипирование

Попов А.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 165–77.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-165-177

Flow cytometry in acute leukemia diagnostics. Guidelines of Russian-Belarusian multicenter group for pediatric leukemia studies

A.M. Popov¹, T.Yu. Verzhbitskaya², L.V. Movchan³, I.A. Demina¹, E.V. Mikhailova¹, A.A. Semchenkova¹,
Zh.V. Permikin², T.V. Shman³, A.I. Karachunskiy¹, 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

²Regional Children's Clinical Hospital No.1, Ekaterinburg

³Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, the Republic of Belarus, Minsk

Flow cytometry is one of the key technologies for acute leukemia (AL) diagnostics. Nevertheless, lack of technological standards hampers implementation of immunophenotyping data in treatment protocols. Earlier our group published the acute lymphoblastic leukemia diagnostic standards. In this paper, we present the updated guidelines for initial immunophenotyping of ALs. This well-harmonized approach includes recommendations for monoclonal antibodies choice, sample preparation, cytometer setup, data analysis and interpretation as well as for the report writing. These guidelines allows application of diagnostic flow cytometric studies in all types of AL.

Key words: acute leukemia, flow cytometry, immunophenotyping

Popov A.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 165–77.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-165-177

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 26.01.2023

Принята к печати 20.02.2023

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

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 26.01.2023

Accepted 20.02.2023

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

Определение иммунофенотипа опухолевых клеток методом многоцветной проточной цитометрии является одним из основных диагностических инструментов при острых лейкозах

(ОЛ) у детей и взрослых [1, 2]. Различия в антигенном профиле лейкоэмических бластов позволяют не только уточнить линейную принадлежность ОЛ, но и выбрать наиболее подходящую терапевтиче-

скую схему для достижения оптимального результата лечения. Несмотря на то, что заключение по результату лабораторного исследования не является диагнозом, при ОЛ иммунофенотипирование (ИФТ) стало ключевым диагностическим методом. В связи с тем, что данные ИФТ используются для стратификации пациентов в рамках крупных многоцентровых исследований по терапии ОЛ, важной является максимально возможная гармонизация данного метода диагностики [3, 4]. Необходима разработка оптимального стандартного подхода, включающего подбор панели антител, методику пробоподготовки, настройку цитометра, анализ цитометрических данных и формулирование заключения. Хотя российскими группами периодически публикуются примеры применения различных классификаций ОЛ [5, 6], до появления российско-белорусской кооперативной группы по диагностике ОЛ у детей каких-либо общих подходов к проведению цитометрической диагностики ОЛ в нашей стране разработано не было. При проведенной нами ранее внешней оценке качества диагностики острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) методом проточной цитометрии [7, 8] было обнаружено, что в российских лабораториях, проводящих ИФТ, существуют совершенно разные подходы к пробоподготовке [7], настройкам приборов [7], анализу и интерпретации полученных результатов [7, 8].

Чаще всего стандартизованные протоколы ИФТ разрабатываются в рамках исследовательских групп по лечению ОЛ. Наличие в Российской Федерации и Республике Беларусь оригинальных протоколов терапии [9, 10] диктует необходимость разработки собственных стандартов цитометрической диагностики. Ранее нашей группой был опубликован стандарт диагностики ОЛЛ [11]. Однако за прошедшее время появились дополнительные данные и были опубликованы новые подходы к проведению диагностического ИФТ ОЛ. В данной работе представлен обновленный стандарт проведения инициального цитометрического исследования, который мы рекомендуем к применению при всех вариантах ОЛ.

Исследуемый материал

Материалом для исследования при ИФТ ОЛ должен являться костный мозг (КМ). Периферическая кровь может быть использована в редких случаях: при крайне низкой клеточности КМ, большом количестве мертвых клеток и одновременном наличии массивного бластоза в крови. Взятие КМ в объеме не менее 2 мл осуществляется в пробирку с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Предпочтительным для исследования является материал, полученный в самом начале пункции, что позволяет максимально избежать разведения КМ периферической кровью, которое может

искажить результаты исследования. Все пробирки должны быть промаркированы фамилией и инициалами пациента, равно как и датой взятия материала, а в направлении на ИФТ указываются фамилия, имя и отчество пациента, возраст, дата, время взятия материала, направительный диагноз, контактные данные врача, назначившего исследование. Для обеспечения сохранности материал предпочтительно хранить и транспортировать при постоянной температуре 4°C и доставлять в лабораторию не позднее 48 ч после взятия. При наличии видимых сгустков, гемолиза или при факте длительного хранения запрашивается повторный образец. При нарушении маркировки пробирок (несоответствие фамилии направлению, отсутствие маркировки) материал утилизируется, также запрашивается повторный образец. Фильтрация КМ проводится при наличии включений жира и мелких сгустков.

Алгоритм проведения анализа

Диагностическое ИФТ ОЛ решает следующие основные задачи:

- подтвердить наличие ОЛ;
- определить линейную принадлежность опухолевых клеток;
- классифицировать ОЛ (в рамках возможностей метода);
- создать предпосылки для дальнейшего мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ).

В качестве вторичных (необязательных) задач могут быть решены также следующие:

- предположить возможную принадлежность к клинически значимой и/или генетической подгруппе;
- определить экспрессию потенциальных мишеней для таргетной терапии и иммунотерапии.

Алгоритм исследования первичного образца КМ представлен на *рисунке 1*. При низкой экспрессии на опухолевых клетках общелейкоцитарного антигена CD45 (часть В-линейных ОЛЛ (В-ОЛЛ), некоторые подтипы острого миелоидного лейкоза (ОМЛ)) важным является вопрос дифференциальной диагностики ОЛ с метастазами в КМ солидных опухолей. У детей чаще всего описаны такие метастазы нейробластомы, саркомы Юинга, рабдомиосаркомы. Ключевым отличием бластов при ОЛ является экспрессия линейно-специфических антигенов, в то время как при солидных опухолях кроме отсутствия общелейкоцитарного антигена CD45 наблюдается экспрессия только неспецифических маркеров, встречающихся на гемопоэтических клетках (CD56, CD81, CD9, CD99 и др.) [12–16]. При выявлении в КМ только гемопоэтических клеток в ряде случаев может быть также актуальным вопрос подтверждения опухолевой природы выявленных в образце клеток-предшественников (особенно при их малом количестве).

Уточнение природы «подозрительных» клеток проводится на основе оценки распределения клеток на графиках экспрессии определяемых антигенов и сравнения полученного распределения с таковым, описанным для нормальных клеток КМ [17]. В случае выявления в КМ лейкоэмических клеток производится определение их линейной принадлежности, а затем окончательная классификация (см. далее). Кроме того, рекомендуется провести окрашивание целиком той комбинацией моноклональных антител (МкАТ), которая в дальнейшем будет использована для мониторинга МОБ.

При диагностике рецидива ОЛ (рисунок 2) ключевой задачей является подтверждение опухолевой принадлежности выявленных клеток-предшественников, поскольку нередки случаи высокого содержания нормальных регенераторных клеток на различных этапах терапии и восстановления гемопоэза в КМ после окончания лечения, что может быть интерпретировано при цитологическом исследовании как развивающийся рецидив ОЛ. В то же время все остальные этапы диагностики проводятся заново, в том числе и определение линейной принадлежности опухолевых клеток, поскольку известны случаи так называемого переключения линий при рецидиве ОЛ [18–20].

Панель моноклональных антител

Подбор панели МкАТ проводится в соответствии с данным стандартом. Многоцветный подход к окрашиванию является обязательным. Конструкция панели может быть различной и зависит как от количества возможных одновременно определяемых параметров при помощи имеющегося в наличии проточного цитометра, так и от принятого в лаборатории алгоритма проведения исследования. Как применение многоступенчатого ИФТ (ориентационная(ые) комбинация(и) + дополнительное окрашивание в зависимости от линейной принадлежности ОЛ), так и окрашивание сразу всеми необходимыми антителами позволяют получить адекватный результат при грамотном проведении исследования.

Панель антител должна удовлетворять следующим условиям:

- наличие в каждой пробирке антитела, позволяющего идентифицировать бластные клетки (CD45);
- включение линейно-специфичных антигенов;
- включение маркеров клеток-предшественников;
- включение маркеров зрелых клеток каждой линии гемопоэза;
- включение антигенов, необходимых для классификации ОЛ;
- включение комбинаций маркеров, применяемых для мониторинга МОБ.

Рисунок 1

Алгоритм проведения ИФТ первичного ОЛ. Объяснение в тексте

Figure 1

An algorithm for immunophenotyping (IPhT) of primary acute leukemia (AL). An explanation is given in the text of the article

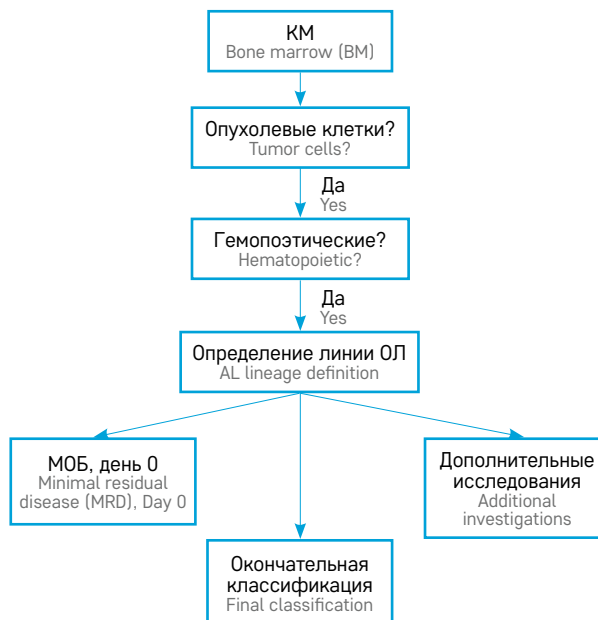


Рисунок 2

Алгоритм проведения ИФТ рецидива ОЛ. Объяснение в тексте

Figure 2

An algorithm for IPhT of AL relapse. An explanation is given in the text of the article



К основным маркерам могут быть добавлены дополнительно антигены, ассоциированные с прогностически важными генетическими аберрациями (например, CD123 при гипердиплоидии [21] или NG2 при перестройках с участием гена *KMT2A* [22]) или являющиеся потенциальными мишенями для таргетной или иммунобиологической терапии. Используемые антитела для диагностики ОЛЛ у детей представлены в таблице 1. Выбор клонов

антител и флуорохромов обычно проводится в соответствии с опытом лабораторий. Ключевые антитела, по которым происходит первичное выделение клеток (CD45, CD19, CD7, CD33), должны быть мечены флуорохромами, позволяющими хорошо разделить интересующие популяции.

Пробоподготовка

ИФТ ОЛ производится из одной пробирки с материалом. Если в лабораторию поступило несколько пробирок с КМ, взятым из разных точек пункции, выбирается одна из них. В случае, если данному пациенту выполнялось цитологическое исследование, выбор точки для ИФТ осуществляется на основании результатов этого исследования. Выбирается точка с максимальным количеством бластных клеток. В случае, если цитологическое исследование в данной лаборатории не выполнялось, выбирается пробирка с наибольшей клеточностью по данным исследования на гематологическом анализаторе.

Используется цельный КМ, дополнительное выделение моноклеаров не рекомендуется. Количество клеток в окрашиваемом образце должно быть достаточным для цитометрического исследования, но в то же время не быть избыточным, так как в этом случае возможен недостаток количества антител

Таблица 1
Используемые антитела для проведения ИФТ методом проточной цитометрии при ОЛ

Table 1
Antibodies used for flow cytometry IPhT in patients with AL

А. Обязательные маркеры A. Mandatory markers	
В-линейные маркеры B-lineage markers	CD19, iCD79a, CD22, CD10, CD20, iIgM, IgM, Kappa, Lambda
Т-линейные маркеры T-lineage markers	iCD3, CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD56, TCRαβ/γδ
Миелоидные маркеры Myeloid markers	iLysozyme, iMPO, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD33, CD64, CD65, CD235a, CD61, CD41
Маркеры предшественников Precursor markers	CD117, CD34
Линейно неограниченные маркеры Non-lineage restricted markers	CD45
Б. Маркеры, используемые для мониторинга МОБ B. Markers for MRD monitoring	
В-линейные маркеры B-lineage markers	CD58, CD38, CD24
Т-линейные маркеры T-lineage markers	CD99, CD48, CD16
В. Дополнительные маркеры B. Additional markers	
При В-ОЛЛ In B-lineage acute lymphoblastic leukemia (B-ALL)	NG2, CD123, TSLPR (CRLF2), CD27, CD44, CD371
При Т-ОЛЛ In T-lineage acute lymphoblastic leukemia (T-ALL)	HLA-DR, CD11b
При остром ОМЛ In acute myeloblastic leukemia (AML)	CD123, NG2, CD303, CD203c, CD45RA, CD371, CD66b, CD11b, HLA-DR

Примечание. i – внутриклеточный антиген.
Note. i – intracellular antigen.

для окрашивания всех молекул антигена, что, в свою очередь, будет приводить к неадекватно слабой флуоресценции клеток. Однако следует помнить, что при большом объеме окрашиваемого КМ или периферической крови может быть затруднен лизис эритроцитов стандартным объемом лизирующего реагента. Так как при первичном ИФТ не рекомендуется анализировать более 50 000 клеток, чаще всего окрашивание большого объема материала не имеет смысла. Для того чтобы быть уверенным, что после всех манипуляций по пробоподготовке в анализируемом образце останется достаточное количество клеток, нужно брать такой объем материала, чтобы количество вносимых клеток не менее чем в 4 раза превышало целевое количество анализируемых клеток. Таким образом, окрашивание даже 200 000 клеток приведет к анализу необходимых 50 000. Однако для более быстрой записи данных проточным цитометром и более адекватного количественного соотношения антиген/антитело лучше окрашивать $1-2 \times 10^6$ клеток. Превышать это количество не рекомендуется. Внесение материала для окрашивания рекомендуется производить после подсчета клеточности на гематологическом анализаторе и произведения расчетов необходимого объема материала.

Количество вносимых МкАТ напрямую зависит от количества клеток в окрашиваемом материале. Оптимальный объем раствора антитела на 2×10^6 клеток определяется путем титрования. Антитела должны вноситься непосредственно из флакона производителя. Заблаговременное приготовление смесей (коктейлей) антител нецелесообразно, так как может привести к распаду относительно нестабильных tandemных флуорохромов.

Лизис эритроцитов и пермеабиллизация для внутриклеточного окрашивания проводятся в соответствии с инструкциями фирм-производителей соответствующих реагентов. Порядок пробоподготовки определяется как особенностями материала, так и правилами использования соответствующих реагентов. Возможно применение предварительного лизиса эритроцитов в образце до его окрашивания раствором МкАТ без дополнительного фиксатора клеток, однако чаще окрашивание предшествует лизису. При окрашивании антителами к мембранным или цитоплазматическим молекулам иммуноглобулина (Ig) необходима предварительная отмывка материала фосфатно-солевым буфером.

Настройка проточного цитометра

Качество иммунофенотипического исследования во многом зависит от настроек используемого прибора. Основными параметрами, влияющими на результат исследования, являются стабильность работы лазеров и жидкостной системы, чувствитель-

ность фотозлектронных умножителей (ФЭУ) детекторов флуоресценции и цифровая компенсация данных флуоресценции.

Стабильность работы лазеров на большинстве приборов определяется по попаданию ее показателей в референсные диапазоны. У большинства производителей проточных цитометров существуют системы калибровочных частиц, позволяющие пользователю достаточно легко контролировать работу лазеров и ФЭУ. Персонал лабораторий обязан как минимум еженедельно контролировать стабильность работы лазеров для получения адекватных результатов анализа. Чувствительность ФЭУ жестко привязана к цифровой компенсации данных, поэтому их настройка производится одновременно. Для настройки компенсации необходимо применять калибровочные материалы, производимые поставщиком проточного цитометра, имеющегося в конкретной лаборатории. При использовании реагентов различных производителей необходимо проводить настройку чувствительности ФЭУ и компенсации для совершенно конкретных комбинаций используемых антител.

Анализ данных

При анализе данных используют гистограммы, контурные и точечные графики, что позволяет более точно оценить экспрессию каждого маркера в отдельности и выявить все возможные коэкспрессии. Для точного выделения опухолевых клеток более предпочтительно использование точечных графиков, в то время как для оценки экспрессии каждого отдельного антигена более информативны гистограммы и контурные графики, поскольку они дают более полную информацию о распределении внутри опухолевой популяции по экспрессии антигена (рисунок 3) [11].

Последовательность действий при выделении опухолевых клеток представлена на рисунке 4. На точечном графике прямого и бокового светорассе-

яния (forward vs side scatter, FSC/SSC) из анализа исключается дебрис (рисунок 4А). Затем на графике, отображающем прямое светорассеяние в формате площади пика (FSC-A) и в формате высоты или ширины пика (FSC-H или FSC-W соответственно) выделяются синглеты и удаляются конгломераты клеток, способные давать завышенные значения флуоресценции (рисунок 4Б). Опухолевые клетки выделяют на графике CD45/SSC (рисунок 4В). Для исключения событий, попадающих в этот регион и не являющихся бластами (дебрис, лимфоциты, грану-

Рисунок 3

Оценка экспрессии антигенов опухолевыми клетками на разных типах графиков. Гистограмма (А) и контурный график (Б) дают больше информации о распределении клеток внутри опухолевой популяции по экспрессии CD34, чем точечный график (В)

Figure 3
The evaluation of antigen expression by tumor cells on different types of plots. A histogram (A) and a contour plot (Б) provide more information about the distribution of cells within the tumor population by CD34 expression than a dot plot (B)

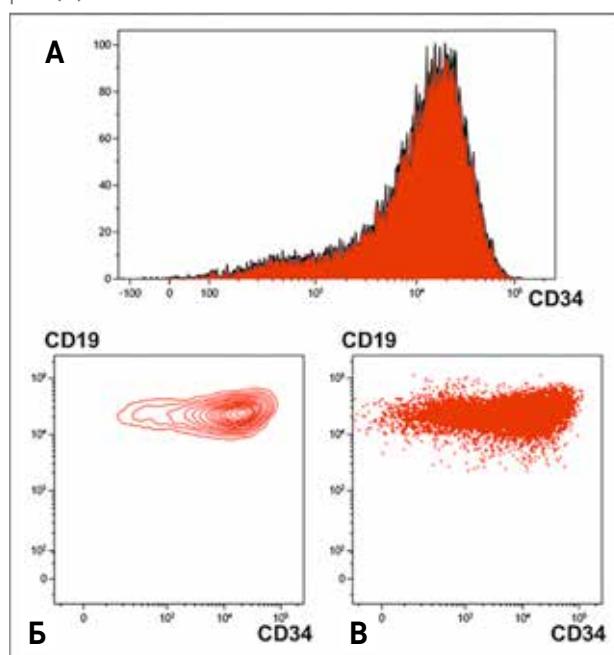
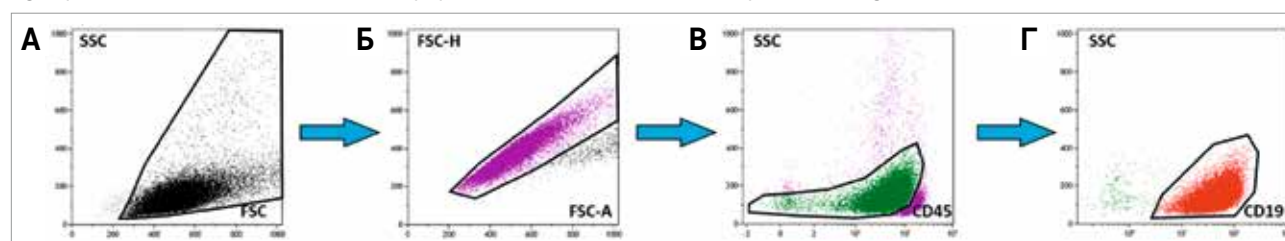


Рисунок 4

Последовательность выделения опухолевых клеток для дальнейшей оценки иммунофенотипа: удаление из анализа разрушенных и мертвых клеток (А), исключение конгломератов клеток (Б) и выделение бластных клеток (В) с последующим уточнением региона опухолевых клеток по линейно-специфическому маркеру (Г). Опухолевая популяция показана красным. Объяснение в тексте

Figure 4

Steps for the isolation of tumor cells for further immunophenotype evaluation: exclusion of damaged and dead cells (A), exclusion of cell aggregates (Б) and isolation of blast cells (В) followed by the delineation of the tumor cell region using a lineage specific marker (Г). The tumor cell population is shown in red. An explanation is given in the text of the article



лоциты или моноциты), проводится дополнительное гейтирование клеток, выделенных по экспрессии CD45, на графике линейно-ассоциированный маркер/SSC (рисунок 4Г), если такой маркер есть в применяемой комбинации антител. В качестве линейно-ассоциированного антигена используют CD19, CD7 и CD33 для В-ОЛЛ, Т-линейного ОЛЛ (Т-ОЛЛ) и ОМЛ соответственно [11]. Не рекомендуется проводить гейтирование и в обратном порядке, т. е. сначала выделять клетки по линейно-ассоциированному антигену, а потом уже среди этих клеток выделять blasts по низкой экспрессии CD45 и соответствующим значениям SSC. В этом случае в анализ могут не попасть дополнительные опухолевые популяции другой линейной направленности, выявляемые тем не менее по снижению экспрессии CD45. Если возникают сложности в выделении blasts при помощи только указанных антигенов, для этой цели допустимо использование любых антигенов, входящих в данную комбинацию, однако сниженная экспрессия CD45 всегда является основным критерием бластной популяции [11].

Применение изотипического контроля считается нецелесообразным, так как в каждом образце присутствуют клетки, представляющие собой как позитивный, так и негативный контроль для антигенов, экспрессируемых бластами. Например, для определения экспрессии CD19 позитивным контролем являются нормальные В-лимфоциты, практически всегда присутствующие в образце, а отрицательным – Т-лимфоциты или гранулоциты, которые также почти всегда хотя бы в небольшом количестве присутствуют в исследуемом материале. Необходимо учитывать, что с повышением значения SSC может увеличиваться аутофлуоресценция клеток и по каналам флуоресценции [23]. Поэтому в качестве негативного контроля, если есть такая возможность, предпочтительно использовать клетки, имеющие сходное значение SSC с исследуемой популяцией. Ширина пика негативной контрольной популяции не является постоянной величиной и зависит от конкретного антигена, используемого флуорохрома, настроек прибора и особенностей клеток данного пациента.

Популяция считается позитивной по данному антигену, если более 20% клеток при мембранном окрашивании или более 10% клеток при внутриклеточном окрашивании находятся на графике правее края контрольной популяции. В то же время, если центры исследуемой и контрольной популяций совпадают, а флуоресценция в исследуемой популяции распределена нормально (кривая Гаусса на гистограмме, расстояние между левыми краями исследуемой и контрольной популяций совпадает с расстоянием между правыми), то популяция считается негативной (рисунок 5А). Если центры

исследуемой и контрольной популяций совпадают, опухолевая популяция может считаться позитивной только при ненормальном распределении флуоресценции внутри популяции и размере «плеча» более 20% или 10% соответственно (рисунок 5Б). Правой границей «негативной зоны» при определении экспрессии CD45 является левый край популяции нормальных гранулоцитов (рисунок 6). Экспрессия CD45 определяется как позитивная, если выявляется существенное перекрытие (более 20%) пиков опухолевой популяции и нормальных гранулоцитов.

Определение линейной принадлежности опухолевых клеток

Принципиальным является определение того, к какой линии гемопоэза относятся опухолевые клетки, поскольку тип используемой терапии зависит, прежде всего, именно от линейной принадлежности опухоли. Различные исследовательские группы предлагают разные сочетания экспрессируемых бластами антигенов для определения доминирующей линии ОЛ [23–26]. Несмотря на некоторые различия, эти алгоритмы мало отличаются друг от друга. Наша

Рисунок 5

Оценка экспрессии антигенов опухолевыми клетками на разных типах графиков. Гистограмма (А) и контурный график (Б) дают больше информации о распределении клеток внутри опухолевой популяции по экспрессии CD34, чем точечный график (В)

Figure 5

The evaluation of antigen expression by tumor cells on different types of plots. A histogram (A) and a contour plot (B) provide more information about the distribution of cells within the tumor population by CD34 expression than a dot plot (B)

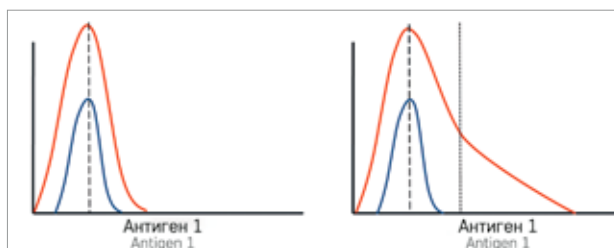
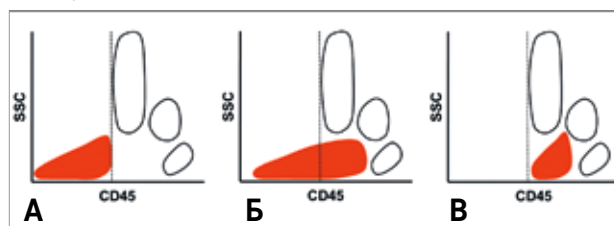


Рисунок 6

Оценка экспрессии CD45 опухолевыми клетками (показаны красным): примеры расположения популяции при CD45-негативном ОЛ (А), частичной экспрессии CD45 (Б) и CD45-позитивном ОЛ (В)

Figure 6

Evaluation of CD45 expression by tumor cells (red): examples of the location of the cell population in case of CD45-negative AL (A), partial expression of CD45 (B), and CD45-positive AL (B)



группа применяет следующий алгоритм определения линейной принадлежности ОЛ. В случае отсутствия специфичных признаков нескольких линий гемопоэза основное направление дифференцировки ОЛ определяется согласно критериям, указанным в таблице 2. ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) характеризуется тотальной ($\geq 80\%$ позитивных клеток) экспрессией нескольких В-линейных антигенов (CD19, CD10, CD22, iCD79a). Внутриклеточная экспрессия CD3, всегда сочетающаяся с мембранной экспрессией CD7, при отсутствии выявляемой миелопероксидазы определяет Т-линейную принадлежность опухоли. В то же время наличие на поверхности опухолевых клеток нескольких миелоидных маркеров при отсутствии специфических признаков ВП-ОЛЛ и Т-ОЛЛ позволяет определить ОМЛ. Тем не менее необходимо учитывать, что ранние антигены каждой из линий гемопоэза могут коэкспрессироваться на клетках ОЛ с другой линейной принадлежностью: например, CD7 или CD19 часто коэкспрессируются при ОМЛ, а CD13 и CD33 – при ВП-ОЛЛ. Разграничение между ОЛЛ с коэкспрессией миелоидных антигенов или ОМЛ с коэкспрессией лимфоидных маркеров, с одной стороны, и бифенотипическим лейкозом, сочетающимся на одной лейкоэмической популяции иммунофенотипические признаки разных линий гемопоэза, с другой стороны, является одной из важных задач диагностического ИФТ. ОЛ со смешанным фенотипом (ОЛСФ) диагностируют в тех случаях, когда бластные клетки экспрессируют одновременно специфические маркеры миелоидной и одной из лимфоидных линий (бифенотипический вариант) (таблица 3, с модификациями из [27]) либо определяются 2 опухолевые популяции с разной линейной принадлежностью (билинейный вариант) [28]. Учитывая генетическую и клональную схожесть отдельных частей опухолевой популяции при билинейной разновидности ОЛСФ [29–31], предпочтительно не разграничивать билинейный и бифенотипический варианты, а в обоих случаях диагностировать ОЛСФ, используя для этого лишь разные подходы: определение экспрессии специфических маркеров (таблица 3) или определение 2 отдельных популяций опухолевых клеток соответственно. В случае отсутствия экспрессии линейно-специфических антигенов и яркой тотальной экспрессии маркеров клеток-предшественников диагностируется острый недифференцированный лейкоз. При рецидиве В-линейного ОЛЛ после CD19-направленной иммунотерапии возможна потеря CD19 [32–35]. В тех случаях, когда другие В-линейные антигены экспрессируются слабо и/или гетерогенно [36], такой лейкоз уже может не соответствовать формальным критериям В-линейной дифферен-

цировки. Однако, принимая во внимание первичный иммунофенотип и очевидное его изменение под действием таргетного препарата, такие случаи все равно интерпретируются как В-ОЛЛ, кроме случаев очевидного «переключения линий» [19].

Иммунофенотипическая классификация острых лейкозов

На данный момент основными классификациями ОЛ являются системы Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в редакциях 2016 и 2022 г. [28, 37], однако для ОЛЛ чаще всего используется адаптированный под каждую конкретную исследовательскую группу вариант классификации группы EGIL [24, 38].

Таблица 2
Критерии линейной принадлежности ОЛ

Table 2
Lineage assignment criteria for AL

Линия Lineage	Критерий Criteria	Антигены Antigens
ВП-ОЛЛ BCP-ALL	≥ 2 тотально позитивных ($\geq 80\%$) или 1 тотально позитивный ($\geq 80\%$) и 2 слабо позитивных (20–80%) ≥ 2 completely positive ($\geq 80\%$) or 1 completely positive ($\geq 80\%$) and 2 weakly positive (20–80%)	CD19, iCD79a, CD22, CD10
Т-ОЛЛ T-ALL	Все 3 и нет признаков ВП-ОЛЛ All 3 and no features of BCP-ALL	CD7(+), iCD3(+), MPO(–)
ОМЛ AML	≥ 2 позитивных и нет признаков ВП-ОЛЛ или Т-ОЛЛ ≥ 2 positive and no features of BCP-ALL or T-ALL	CD33, CD13, CD117, CD15, MPO, CD64

Note. BCP-ALL – B-cell precursor ALL.

Таблица 3
Специфические признаки разных линий гемопоэза, используемые для диагностики ОЛСФ

Table 3
Specific characteristics of different hematopoietic lineages used for the diagnosis of mixed-phenotype AL

Линия Lineage	Критерий Criteria
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 Cytoplasmatic expression of CD3 detected by flow cytometry using antibodies to ϵ -chain of the receptor
Миелоидная линия Myeloid lineage	Миелопероксидаза, определенная любым методом, или не менее двух моноцитарных антигенов (CD11c, CD64, CD14, лизоцим) Expression of myeloperoxidase detected by any method, or at least two monocytic antigens (CD11c, CD64, CD14, lysozyme)

Тем не менее, по сути, при проведении диагностического ИФТ учитываются различные аспекты из обеих основных систем, прежде всего, на этапе определения линейности ОЛ.

Классификационные категории ОЛЛ хорошо известны и детально описаны [24, 38]. Как для В-ОЛЛ, так и для Т-ОЛЛ определение иммуноварианта базируется только на экспрессии перечисленных в классификации маркеров, в то время как определение других антигенов позволяет получить дополнительную информацию об опухолевых клетках, но не должно изменять определение классификационной группы [24]. Среди как В-ОЛЛ, так и Т-ОЛЛ выделяют несколько вариантов, отличающихся степенью «зрелости» опухолевых клеток (BI–BIV и TI–TIV соответственно).

Для В-ОЛЛ степень «зрелости» определяется по экспрессии CD10, а также мембранной и внутриклеточной экспрессии тяжелых и/или легких цепей Ig [24]. Остальные маркеры, такие как CD20, CD34, TdT, CD58, имеют лишь вспомогательное значение и не являются основой для итогового заключения. Алгоритм диагностики В-ОЛЛ представлен на рисунке 7. Варианты BI–BIII относятся к ВП-ОЛЛ. В части случаев возможна экспрессия iIg при отрицательном CD10 [39], что не отменяет вариант BIII ОЛЛ. Редкие случаи ВП-ОЛЛ с поверхностной экспрессией Ig, не имеющие других признаков лимфомы/лейкоза Беркитта (морфология L3 по FAB, генетические аберрации с вовлечением гена MYC, высокая скорость пролиферации) все равно должны быть отнесены к BIV-варианту [23, 40], хотя включаются обычно в общепринятое лечение ОЛЛ [41]. Для уточнения природы такого ОЛ (рисунке 8) возможно применение дополнительных маркеров, таких как CD58, а также индикаторов высокой пролиферативной активности клеток, таких как внутриклеточная экспрессия Ki-67 и относительное количество клеток в S-фазе клеточного цикла, определенное при помощи ДНК-цитометрии [41, 42].

При Т-ОЛЛ степень «зрелости» определяется по наличию CD2, CD5, CD1a, а также Т-клеточных рецепторов [24]. Алгоритм диагностики Т-ОЛЛ представлен на рисунке 9. Экспрессия CD3 на поверхности клеток встречается уже на достаточно ранних стадиях развития [23], а не только при варианте TIV. Экспрессия CD1a независимо от других маркеров позволяет поставить диагноз TIII-ОЛЛ [23, 24].

При гетерогенной экспрессии классифицирующих антигенов, несмотря на очевидное наличие нескольких субпопуляций опухолевых клеток, не рекомендуется указывать несколько классификационных групп. Предпочтение отдается не большей субпопуляции, а той, которая имеет более «зрелый» иммунофенотип. Например, при экспрессии CD10 на

Рисунок 7
Алгоритм дифференциальной диагностики В-ОЛЛ, согласно классификации EGIL

Figure 7
An algorithm for differential diagnosis of B-ALL according to the EGIL classification

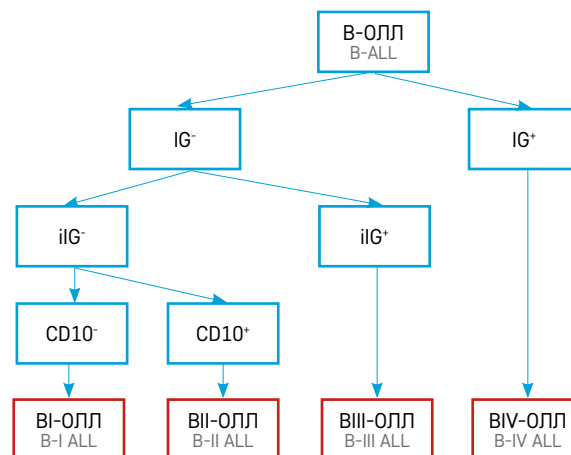
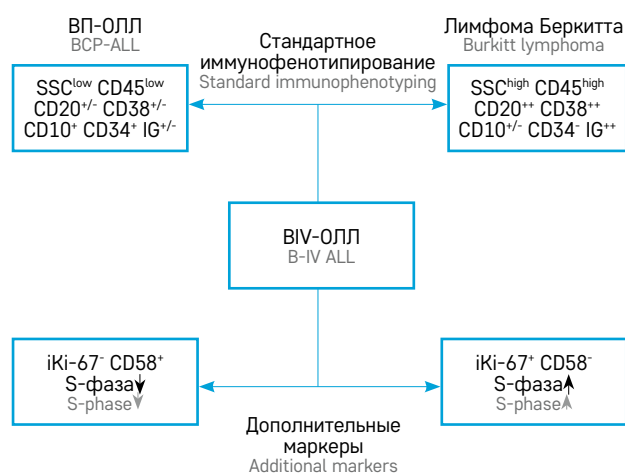


Рисунок 8
Гетерогенность варианта BIV (IgM⁺) ОЛЛ по EGIL. Алгоритм дифференциальной диагностики В-ОЛЛ и лейкомизации лимфомы Беркитта. Объяснение в тексте

Figure 8
Heterogeneity of B-IV (IgM⁺) ALL variant according to the EGIL. An algorithm for differential diagnosis of B-ALL and Burkitt lymphoma with bone marrow involvement. Explanation is given in the text of the article



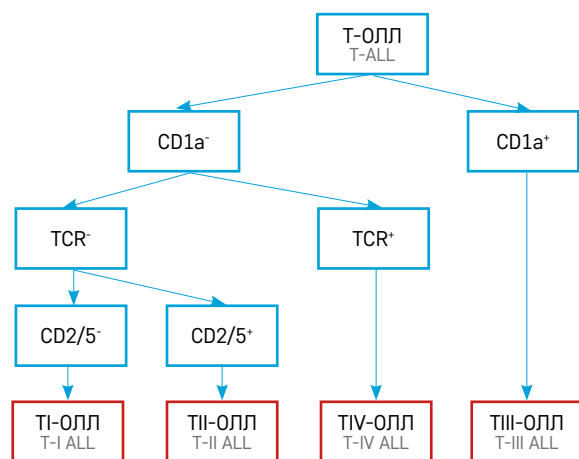
25% бластов и отсутствии мембранной и цитоплазматической экспрессии Ig должен быть установлен BII-вариант, несмотря на то, что подавляющее большинство клеток имеет фенотип BI ОЛЛ. Исключение делается только для экспрессии CD1a [23]. Вариант TIII (кортикальный Т-ОЛЛ) устанавливается при наличии данного маркера на поверхности более 20% бластов вне зависимости от других особенностей иммунофенотипа [23, 24]. Однако и в данном случае, исходя из биологических особенностей опухоли, может быть применено исключение и из другого упомянутого выше правила. При выраженной экспрессии Т-клеточных рецепторов предпочтительной является формулировка: TIII-ОЛЛ, ТКР⁺.

Рисунок 9

Алгоритм дифференциальной диагностики Т-ОЛЛ (CD7⁺iCD3⁺), согласно модифицированной классификации EGIL

Figure 9

An algorithm for differential diagnosis of T-ALL (CD7⁺iCD3⁺) according to the modified EGIL classification



Относительно недавно был выделен отдельный подтип Т-ОЛЛ – ОЛЛ из ранних Т-линейных предшественников (ЕТР-ОЛЛ) [43]. В этом случае бласты экспрессируют CD3 внутриклеточно (часто гетерогенно), для них характерна низкая (менее 75%) экспрессия CD5; отсутствует экспрессия CD1a и CD8, экспрессируется хотя бы один из следующих антигенов: HLA-DR, CD34, миелоидные маркеры (CD13, CD33, CD11b, CD117) [23, 43]. Эта опухоль происходит из ранних тимических предшественников, сохраняющих способность к дифференцировке как в Т-лимфоциты, так и в миелоидные клетки [29, 44]. ЕТР-ОЛЛ имеет общие биологические черты с ОЛСФ (при сочетании признаков Т-ОЛЛ и ОМЛ) [29], часто плохо отвечает на «лимфоидный» тип противоопухолевой химиотерапии [43, 45], а при рецидиве или прогрессии может трансформироваться в ОМЛ или ОЛСФ [45]. Данная подгруппа Т-ОЛЛ может соответствовать как TI-, так и TII-варианту по классификации EGIL [23, 46], однако представляет собой отдельную классификационную группу, требующую упоминания параллельно с подтипом по EGIL [47]. При выявлении ЕТР-ОЛЛ мы рекомендуем в итоговом заключении обращать внимание, прежде всего, именно на соответствие лейкоза критериям ЕТР-ОЛЛ, но при этом обязательно указывать подвариант по EGIL (например: ЕТР-ОЛЛ (TII-ОЛЛ)).

Следует учитывать, что экспрессия любых антигенов, в том числе и тех, которые определяют принадлежность ОЛЛ к тому или иному иммуноварианту, может изменяться при рецидиве по сравнению с инициальной диагностикой [48]. В таком случае, соответственно, изменяется и вариант ОЛЛ по сравнению с первично диагностированным.

При ОМЛ роль ИФТ в точном классифицировании опухоли существенно меньше, чем при ОЛЛ. Только острый эритробластный и острый мегакариобластный лейкозы могут быть относительно точно определены по антигенному профилю опухолевых клеток [24]. Все остальные варианты должны быть обозначены просто как ОМЛ, без дальнейших уточнений. Следует отметить, что существенную роль ИФТ играет только в диагностике так называемого чистого эритробластного лейкоза, когда весь опухолевый субстрат представлен эритроидными клетками с явными aberrациями антигенного профиля. Именно такие ОМЛ в настоящее время в классификации ВОЗ отнесены к эритробластному лейкозу [28]. В то же время М6-вариант ОМЛ по FAB-классификации [49] предусматривает гораздо более гетерогенный набор случаев, большая часть которых сейчас может быть отнесена к другим вариантам ОМЛ или миелодиспластическому синдрому [50], в диагностике которых роль ИФТ, соответственно, весьма ограничена. При эритробластном лейкозе опухолевые эритроидные предшественники (CD45-отрицательные) экспрессируют как предшественнический антиген CD117, так и эритроидный маркер CD235a (гликофорин А) [37]. В противоположность эритроидному ОМЛ мегакариобластный лейкоз имеет четкие иммунофенотипические критерии диагностики [37]. Опухолевые клетки экспрессируют тромбоцитарные маркеры CD41 и CD61 (реже используются CD42a и CD42b). Однако применение данных антигенов в диагностике ОМЛ подразумевает качественную пробоподготовку, исключаящую налипание на бласты тромбоцитов, также экспрессирующих CD41 и CD61 [51]. Важно отметить, что оба данных антигена представляют собой части одного рецепторного комплекса тромбоцитов, поэтому их экспрессия характеризуется высокой степенью синхронности и на точечных графиках формирует характерное диагональное распределение, которое именно для данных антигенов не должно быть ошибочно интерпретировано как случай неадекватной настройки проточного цитометра. Другие особенности иммунофенотипа мегакариобластного лейкоза, такие как отсутствие экспрессии CD11a [51], часто выявляемого при других ОМЛ, являются дополнительными признаками, не определяющими итоговый диагноз. Важно отметить, что распространенный ранее нарратив о том, что мегакариобластный лейкоз – CD45-негативная опухоль [52], оказался ошибочным: большинство случаев данного варианта ОМЛ CD45-позитивны [53]. В целом же мегакариобластный лейкоз представляет собой очень гетерогенную группу ОМЛ [53, 54], в которой можно выделить как разные генетические варианты, так и подгруппы с различным антигенным профилем. При некоторых вариантах мегакариоб-

ластного ОМЛ ключевым вопросом диагностического ИФТ становится дифференциальная диагностика с метастазами солидных опухолей [55].

Описание результатов диагностического иммунофенотипирования

Процентное содержание лейкоэмических клеток в КМ указывается только по данным проточной цитометрии. Большее или меньшее количество бластов, определяемое цитологически, никакого значения не имеет, так как может быть легко объяснено как техническими, так и биологическими причинами. Описание общей картины КМ и клеточного состава неопухолевых популяций может быть внесено в заключение в виде отдельного раздела при наличии соответствующего запроса, однако ни в каком случае не должно быть включено в заключение по ИФТ опухолевых клеток, поскольку описание антигенного профиля сразу нескольких популяций, только одна из которых является опухолевой, может привести к неправильной интерпретации результата исследования лечащим врачом.

Если при исследовании КМ не было обнаружено опухолевых клеток, в том числе если выявленные бласты с учетом оценки маркеров аберрантности представляют собой нормальные клетки-предшественники, в заключении должно быть указано, что данных за ОЛ в исследуемом материале нет. Эта ситуация кардинально отличается от ситуации, когда опухолевые клетки обнаруживаются, но в количествах, не превышающих пороговый уровень для диагностики ОЛ (20%). В случае лимфоидной природы опухолевых клеток все равно целесообразно указание соответствия иммунофенотипа тому или иному варианту ОЛЛ. Однако это может быть сделано только в том случае, если данная популяция четко идентифицируется при помощи ИФТ. При этом как раз играет свою роль именно то, что заключение ИФТ не является диагнозом, а лишь указывает на наличие в КМ точного количества опухолевых клеток с антигенным профилем, соответствующим определенному типу лейкоза. В тех случаях, когда бластов слишком мало для уточнения окончательного варианта ОЛЛ, это должно быть отражено в комментариях. То же правило может быть применено и при миелоидной природе опухолевых клеток, однако только в том случае, если опухолевая популяция превышает 15% всех ядросодержащих клеток (ЯСК). В других случаях, часто соответствующих миелодиспластическому синдрому или другим онкогематологическим заболеваниям, целесообразно просто указание на миелоидную направленность дифференцировки бластов.

При наличии в КМ нескольких четко идентифицируемых методом проточной цитометрии популяций

опухолевых клеток их отдельное 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 отдельное описание опухолевого пула в данном случае не приведет к изменению итогового заключения о миелоидной природе опухолевых клеток, но может ввести в заблуждение лечащего врача.

Отдельное 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. В том случае, если меньшая популяция составляет более 10% всех ЯСК КМ, иммунофенотип обеих субпопуляций описывается одинаково подробно. Если доля меньшей составляющей лейкоэмического пула превышает 5%, но не превышает 10% – подробно описывается антигенный профиль большей популяции, но после основной части заключения делается уточнение, что выявляется минорная популяция клеток, возможно, опухолевых, с указанием их процента от ЯСК, суммарного иммунофенотипа и при возможности линейной принадлежности.

Экспрессия антигенов опухолевой популяцией описывается в формате указания процентного содержания позитивных опухолевых клеток среди всей лейкоэмической популяции. Несмотря на то, что подобное описание зачастую не позволяет составить более или менее точное представление о биологии опухолевых клеток и субпопуляционной структуре лейкоэмической популяции, оно является наиболее понятным и однозначно воспринимаемым для клинических врачей. В то же время такой вариант представления данных наиболее пригоден для гармонизации ИФТ в рамках многоцентровых исследований, поскольку, по сути, результат в данном случае зависит практически только от корректного определения границ негативности/позитивности при проведении проточной цитометрии и аккуратности выбора области анализа целевой популяции бластов. При этом степень влияния настроек прибора существенно ниже, а различиями в используемых сочетаниях антител и флуорохромов в большинстве случаев можно пренебречь. В качестве суммарного иммунофенотипа указывается сочетание антигенов, экспрессия которых определяется на более чем 20% опухолевых клеток в случае мембранного окрашивания, и более чем 10% – при внутриклеточном окрашивании. Указывать в данной графе антигены, экспрессия которых не выявлена, не рекомендуется. Итогом описания результатов ИФТ является указание на то, какому варианту ОЛ соответствует

антигенный профиль опухолевой популяции. Некорректно формулировать итоговое заключение в виде утверждения, что в КМ выявлен тот или иной вариант ОЛ. Должно быть указано лишь, что иммунофенотип опухолевых клеток соответствует той или иной классификационной категории ОЛ. Кроме классификационной категории в итоговом заключении необходимо указать коэкспрессию всех маркеров линий гемопоэза, отличных от линии опухолевой популяции, а также важных маркеров негемопоэтических клеток (например, NG2).

Кроме указанной выше информации в заключение могут быть внесены любые комментарии, касающиеся проведенного исследования, прежде всего его технической стороны. Например, может быть указано на низкую клеточность или плохое качество материала. Пространных рассуждений относительно биологических особенностей опухоли, косвенно базирующихся на данных ИФТ, в комментариях следует избегать. Исключение может быть сделано только в случае дифференциальной диагностики ОЛЛ и лейкоемизации некоторых лимфом, прежде всего лимфомы Беркитта. В том случае, если все дополнительные цитометрические исследования были проведены (рисунки 8), допустим комментарий о возможной природе исследуемой опухоли. Любые размышления о наличии тех или иных молекулярно-генетических перестроек или соответствии ОЛ какой-либо морфологической категории (например, по FAB-классификации) считаются недопустимыми.

Следует отметить, что конкретное иммунофенотипическое заключение не может быть сформулировано только в случае существенных технических сложностей, но не фенотипических особенностей опухоли. Даже при гетерогенном профиле экспрессии антигенов итоговое его описание должно заканчиваться сформулированным заключением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработанный и представленный в данной работе гармонизированный подход к ИФТ ОЛ методом проточной цитометрии позволит в дальнейшем применять данную диагностическую технологию в системе референсных лабораторий в российско-белорусских многоцентровых исследованиях по терапии ОЛ у детей.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено при финансовой поддержке благотворительного фонда «Подари жизнь» и фонда «Наука – детям».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

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

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

Karachunskiy A.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9300-5198>

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

Литература

1. Faderl S., O'Brien S., Pui C.H., Stock W., Wetzler M., Hoelzer D., et al. Adult acute lymphoblastic leukemia: concepts and strategies. *Cancer* 2010; 116 (5): 1165–76.
2. Hunger S.P., Mullighan C.G. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med* 2015; 373 (16): 1541–52.
3. Van Dongen J.J., Orfao A., EuroFlow C. EuroFlow: Resetting leukemia and lymphoma immunophenotyping. Basis for companion diagnostics and personalized medicine. *Leukemia* 2012; 26 (9): 1899–907.
4. Bene M.C., Nebe T., Bettelheim P., Buldini B., Bumbea H., Kern W., et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia* 2011; 25 (4): 567–74.
5. Антипова А.С., Баранова О.Ю., Френкель М.А., Тупицын Н.Н., Купрышина Н.А., Обухова Т.Н. и др. Острые лейкозы со смешанным фенотипом: клинико-лабораторные особенности и прогноз. *Клиническая онкогематология* 2015; 8 (2): 136–50.
6. Зуева Е.Е., Афанасьев Б.В., Тотолян А.А. Иммунофенотипическая диагностика острых лейкозов методом проточной цитометрии. *Медицинская иммунология* 2004; 6 (1–2): 9–24.
7. Попов А.М., Лагойко С.Н., Румянцев А.В., Луговская С.А., Фечина Л.Г., Румянцев С.А. и др. Проблемы иммунофенотипирования в России: опыт работы референсного центра кооперированной клинической группы «Москва–Берлин». *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2015; 14 (1): 58–61.
8. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Зуева Е.Е., Ананьева О.В., Бабенко Е.В., Байдун Л.В. и др. Результаты внешнего контроля качества диагностики острого лимфобластного лейкоза методом проточной цитометрии. *Онкогематология* 2016; 11 (3): 68–75.
9. Румянцев А.Г., Карачунский А.И. Оптимизация терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в России. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2009; 88 (4): 19–27.
10. Паровичникова Е.Н., Алешина О.А., Троицкая В.В., Чабаева Ю.А., Соколов А.Н., Исинова Г.А. и др.

- Сравнение результатов лечения взрослых больных острыми Rh-негативными лимфобластными лейкозами по протоколам Российских многоцентровых исследований «ОЛЛ-2009» и «ОЛЛ-2016». Гематология и трансфузиология 2022; 67 (4): 460–77.
11. Новикова И.А., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Цаур Г.А., Белевцев М.В., Попов А.М. Стандарт российско-белорусской кооперативной группы по иммунофенотипированию острого лимфобластного лейкоза у детей. Онкогематология 2018; 13 (1): 73–82.
 12. Bozzi F., Collini P., Aiello A., Barzano E., Gambirasio F., Podda M., et al. Flow cytometric phenotype of rhabdomyosarcoma bone marrow metastatic cells and its implication in differential diagnosis with neuroblastoma. Anticancer Res 2008; 28 (3A): 1565–9.
 13. Bozzi F., Gambirasio F., Luksch R., Collini P., Brando B., Fossati-Bellani F. Detecting CD56+/NB84+/CD45– immunophenotype in the bone marrow of patients with metastatic neuroblastoma using flow cytometry. Anticancer Res 2006; 26 (5A): 3281–7.
 14. Ferreira-Facio C.S., Milito C., Botafogo V., Fontana M., Thiago L.S., Oliveira E., et al. Contribution of multiparameter flow cytometry immunophenotyping to the diagnostic screening and classification of pediatric cancer. PLoS One 2013; 8 (3): e55534.
 15. Ferreira-Facio C.S., Botafogo V., Ferrao P.M., Canellas M.C., Milito C.B., Romano S., et al. Flow Cytometry Immunophenotyping for Diagnostic Orientation and Classification of Pediatric Cancer Based on the EuroFlow Solid Tumor Orientation Tube (STOT). Cancers (Basel) 2021; 13 (19).
 16. Popov A., Druy A., Shorikov E., Verzhbitskaya T., Solodovnikov A., Saveliy L., et al. Prognostic value of initial bone marrow disease detection by multiparameter flow cytometry in children with neuroblastoma. J Cancer Res Clin Oncol 2019; 145 (2): 535–42.
 17. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Фечина Л.Г., Шестопалов А.В., Плясунова С.А. Острые лейкозы: различия иммунофенотипа бластных клеток и их неопухолевых аналогов в костном мозге. Клиническая онкогематология 2016; 9 (3): 302–13.
 18. Зеркаленкова Е.А., Илларионова О.И., Казакова А.Н., Пономарева Н.И., Байдун Л.В., Осипова Е.Ю. и др. Смена линейной дифференцировки в рецидиве острого лейкоза с перестройкой гена *MLL* (*KMT2A*). Обзор литературы и описание случаев. Онкогематология 2016; 11 (2): 21–9.
 19. Semchenkova A., Mikhailova E., Komkov A., Gaskova M., Abasov R., Matveev E., et al. Lineage Conversion in Pediatric B-Cell Precursor Acute Leukemia under Blinatumomab Therapy. Int J Mol Sci 2022; 23 (7).
 20. Dorantes-Acosta E., Pelayo R. Lineage switching in acute leukemias: a consequence of stem cell plasticity? Bone Marrow Res 2012; 2012: 406796.
 21. Djokic M., Bjorklund E., Blennow E., Mazur J., Soderhall S., Porwit A. Overexpression of CD123 correlates with the hyperdiploid genotype in acute lymphoblastic leukemia. Haematologica 2009; 94 (7): 1016–9.
 22. Zerkalnikova E., Mikhaylova E., Lebedeva S., Illarionova O., Baidun L., Kashpor S., et al. Quantification of NG2-positivity for the precise prediction of *KMT2A* gene rearrangements in childhood acute leukemia. Genes Chromosomes Cancer 2021; 60 (2): 88–99.
 23. 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.
 24. 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.
 25. 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.
 26. 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.
 27. 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.
 28. 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.
 29. 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.
 30. Demina I., Zerkalnikova E., Semchenkova A., Volchikov 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.
 31. 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.
 32. Mikhailova E., Gluhanyuk E., Illarionova O., Zerkalnikova 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.
 33. Mikhailova E., Illarionova O., Shelihova L., Zerkalnikova E., Moloskova O., Olshanskaya Y., et al. Immunophenotypic changes in leukemic blasts in children with relapsed/

- refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia after treatment with CD19-directed chimeric antigen receptor (CAR)-expressing T cells. *Haematologica* 2022; 107 (4): 970–4.
34. Mejstrikova E., Klinger M., Markovic A., Zugmaier G., Locatelli F. CD19 expression in pediatric patients with relapsed/refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia pre- and post-treatment with blinatumomab. *Pediatr Blood Cancer* 2021; 68 (12): e29323.
 35. 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. DOI: 10.1038/s41375-020-0760-x
 36. Mikhailova E., Itov A., Zerkalenskaya E., Roumiantseva J., Olshanskaya Y., Karachunskiy A., et al. B-lineage antigens that are useful to substitute CD19 for minimal residual disease monitoring in B cell precursor acute lymphoblastic leukemia after CD19 targeting. *Cytometry B Clin Cytom* 2022; 102 (5): 353–9. DOI: 10.1002/cyto.b.22088
 37. Khoury J.D., Solary E., Abela 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.
 38. Bene M.C., Bernier M., Casasnovas R.O., Castoldi G., Knapp W., Lanza F., et al. The reliability and specificity of c-kit for the diagnosis of acute myeloid leukemias and undifferentiated leukemias. The European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL). *Blood* 1998; 92 (2): 596–9.
 39. Attarbaschi A., Mann G., Konig M., Steiner M., Strehl S., Schreiberhuber A., et al. Mixed lineage leukemia-rearranged childhood pro-B and CD10-negative pre-B acute lymphoblastic leukemia constitute a distinct clinical entity. *Clin Cancer Res* 2006; 12 (10): 2988–94.
 40. Demina I., Zerkalenskaya E., Illarionova O., Olshanskaya Y., Verzhbitskaya T., Semchenkova A., et al. Heterogeneity of childhood acute leukemia with mature B-cell immunophenotype. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019; 145 (11): 2803–11.
 41. Demina I., Zerkalenskaya E., Zhogov V., Lagoyko S., Semchenkova A., Dubrovina M., et al. The use of additional immunophenotypic criteria for the differential diagnosis of Burkitt lymphoma/leukemia: An exemplary case report. *Leuk Res* 2021; 110: 106662.
 42. Demina I., Voropayev A., Semchenkova A., Zerkalenskaya E., Olshanskaya Y., Samochatova E., et al. Additional flow cytometric studies for differential diagnosis between Burkitt lymphoma/leukemia and B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 2021; 100: 106491.
 43. Coustan-Smith E., Mullighan C.G., Onciu M., Behm F.G., Raimondi S.C., Pei D., et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* 2009; 10 (2): 147–56.
 44. Weerkamp F., Baert M.R., Brugman M.H., Dik W.A., de Haas E.F., Visser T.P., et al. Human thymus contains multipotent progenitors with T/B lymphoid, myeloid, and erythroid lineage potential. *Blood* 2006; 107 (8): 3131–7.
 45. Permikin Z., Popov A., Verzhbitskaya T., Riger T., Plekhanova O., Makarova O., et al. Lineage switch to acute myeloid leukemia during induction chemotherapy for early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with the translocation t(6;11)(q27;q23)/KMT2A-AFDN: A case report. *Leuk Res* 2022; 112: 106758.
 46. Шарлай А.С., Илларионова О.И., Федюкова Ю.Г., Вержбицкая Т.Ю., Фечина Л.Г., Бойченко Э.Г. и др. Иммунофенотипическая характеристика острого лимфобластного лейкоза из ранних Т-клеточных предшественников. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2019; 18 (2): 66–74.
 47. Попов А.М., Мовчан Л.В., Вержбицкая Т.Ю., Гривцова Л.Ю., Луговская С.А. Рекомендованный формат заключения по результатам диагностического иммунофенотипирования костного мозга при острых лейкозах. *Лабораторная служба* 2020; 9 (1): 90–5.
 48. Borowitz M.J., Pullen D.J., Winick N., Martin P.L., Bowman W.P., Camitta B. Comparison of diagnostic and relapse flow cytometry phenotypes in childhood acute lymphoblastic leukemia: implications for residual disease detection: a report from the children's oncology group. *Cytometry B Clin Cytom* 2005; 68 (1): 18–24.
 49. 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.
 50. Weinberg O.K., Arber D.A. Erythro-leukemia: an Update. *Curr Oncol Rep* 2021; 23 (6): 69.
 51. Boztug H., Schumich A., Potschger U., Muhlegger N., Koleno 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.
 52. Илларионова О.И., Горчакова М.В., Русанова Е.Б., Прохорова Ю.А., Салогуб Г.Н., Осипова Е.Ю. и др. Конспект клинической цитометрии: острый мегакариобластный лейкоз. *Клиническая лабораторная диагностика* 2015; 60 (7): 42–9.
 53. Алексенко М.Ю., Илларионова О.И., Вержбицкая Т.Ю., Зеркаленкова Е.А., Новикова И.А., Панферова А.В. и др. Иммунофенотипическая характеристика острого мегакариобластного лейкоза у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2019; 18 (3): 35–40.
 54. Brouwer N., Matarraz S., Nierkens S., Hofmans M., Novakova M., da Costa E.S., et al. Immunophenotypic Analysis of Acute Megakaryoblastic Leukemia: A EuroFlow Study. *Cancers (Basel)* 2022; 14 (6).
 55. 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.

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 подписными подписями на отдельном листе, фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита. Все сокращения и обозначения, использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подписной 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

Коселуго® (селуметиниб) — первый и единственный зарегистрированный таргетный препарат для лечения симптоматических неоперабельных плексиформных нейрофибром у детей в возрасте от 3 лет и старше с нейрофиброматозом 1 типа¹



МЕНЬШЕ
объем
опухоли

БОЛЬШЕ
возможностей
в жизни

66% пациентов достигли уменьшения объема опухоли на $\geq 20\%$ ¹

1. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Коселуго® (селуметиниб). Регистрационное удостоверение ЛП–007563 от 01.11.2021

КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА КОСЕЛУГО® (СЕЛУМЕТИНИБ).

Регистрационный номер: ЛП - 007563 от 01.11.2021. **Торговое наименование:** Коселуго®. **Международное непатентованное наименование:** селуметиниб. **Лекарственная форма:** капсулы. **Фармакотерапевтическая группа:** противоопухолевое средство – протеинкиназы ингибитор. **Код АТХ:** L01EE04. **Показания к применению.** В качестве монотерапии для лечения симптоматических, неоперабельных плексиформных нейрофибром (ПН) у пациентов детского возраста от 3 лет и старше с нейрофиброматозом 1 типа (НФ1). **Противопоказания.** Повышенная чувствительность к селуметинибу или вспомогательным веществам, входящим в состав препарата; нарушение функции печени тяжелой степени; беременность; детский возраст до 3 лет (безопасность и эффективность не установлены). **Способ применения и дозы.** Рекомендуемая доза составляет 25 мг/м² площади поверхности тела (ППТ) два раза в сутки (приблизительно каждые 12 ч), для приема внутрь. Доза подбирается индивидуально на основе ППТ (мг/м²) и округляется до ближайшей достижимой дозы 5 мг или 10 мг (до максимальной однократной дозы 50 мг). Для получения необходимой дозы можно комбинировать капсулы препарата Коселуго разной дозировки. Терапию следует продолжать, пока наблюдается клиническая польза, или до прогрессирования ПН или развития непереносимой токсичности. Данные о пациентах старше 18 лет ограничены, поэтому продолжение терапии при достижении взрослого возраста должно основываться на оценке врачом соотношения пользы и рисков у конкретного пациента. Пропуск приема дозы препарата. При пропуске приема препарата Коселуго дозу следует принять только в том случае, если до следующего запланированного приема препарата осталось более 6 ч. Коррекция дозы. В зависимости от индивидуальной переносимости и безопасности препарата может потребоваться приостановка терапии и/или снижение дозы, или прекращение терапии селуметинибом (см. разделы «Побочное действие» и «Особые указания» полного варианта Инструкции). **Побочное действие.** Профиль безопасности монотерапии селуметинибом у пациентов детского возраста с НФ1 с неоперабельными ПН был установлен по данным оценки объединенной популяции для анализа безопасности, состоящей из 74 пациентов детского возраста. Этот пул пациентов включал 50 пациентов в стране 1 исследования II фазы SPRINT, получавших селуметиниб в дозе 25 мг/м² два раза в сутки (набор данных основного исследования), и 24 пациента в исследовании I фазы SPRINT, получавших селуметиниб в дозе от 20 до 30 мг/м² два раза в сутки (исследование по подбору дозы). Клинически значимых различий профиля безопасности в исследовании I фазы SPRINT и стране 1 исследования II фазы SPRINT не было выявлено. Наиболее частыми нежелательными реакциями любой степени тяжести (частота $\geq 45\%$) были рвота (82%), сыпь (80%), повышение активности креатинфосфокиназы в крови (76%), диарея (77%), тошнота (73%), астенические явления (59%), сухость кожи (58%), лихорадка (57%), акнеформная сыпь (54%), гипоальбуминемия (50%), повышение активности аспартатаминотрансферазы (50%) и паронихия (45%). Приостановка терапии и снижение дозы из-за развития нежелательных явлений были зарегистрированы у 78% и 32% пациентов соответственно. Наиболее частыми наблюдавшимися нежелательными реакциями, приводившими к изменению дозы селуметиниба (приостановке терапии или снижению дозы), были рвота (26%), паронихия (16%), диарея (15%) и тошнота (11%). У 12% пациентов терапия была прекращена из-за развития нежелательных явлений: диарея (3%), анемия (3%), лихорадка (3%), повышение активности креатинфосфокиназы в крови (3%), повышение концентрации креатинина в крови (1%). **Форма выпуска.** Капсулы, 10 мг, 25 мг. **Условия хранения.** При температуре не выше 30°C, в оригинальном флаконе для защиты от влаги и света. **Срок годности.** 3 года. Не применять по истечении срока годности. **Условия отпуска.** Отпускают по рецепту. Дальнейшая информация предоставляется по требованию: ООО «АстраЗенека Фармасытикалз»: Российская Федерация, 123112, Москва, 1-й Красногвардейский пр-д, д. 21, стр. 1. Тел.: +7 (495) 799 56 99, факс: +7 (495) 799 56 98. KOS_RU-11851 Дата одобрения_15.11.2021 Дата истечения_15.11.2023.

Материал предназначен для специалистов здравоохранения. Имеются противопоказания. Перед назначением ознакомьтесь, пожалуйста, с полной инструкцией по медицинскому применению.

Если Вам стало известно о нежелательной реакции при использовании лекарственного препарата компании «АстраЗенека», пожалуйста, сообщите эту информацию в медицинский отдел компании. Вы можете написать нам по электронной почте Safety.Russia@astrazeneca.com, заполните веб-форму: <https://aereporting.astrazeneca.com/> или связаться с нами по телефону 8 (495) 799-56-99, доб. 2580.

Номер одобрения: RU-12011. Дата одобрения: 29.11.2021. Дата истечения: 29.11.2023

ООО «АстраЗенека Фармасытикалз»
Российская Федерация, 123112, Москва, 1-й Красногвардейский пр-д, д. 21, стр. 1
Телефон: +7 (495) 799 56 99, факс: +7 (495) 799 56 98, www.astrazeneca.ru

AstraZeneca

РЕКЛАМА

Каждый специалист время от времени сталкивается с профессиональными научно-медицинскими вопросами, на которые он не может быстро найти ответы

Ваши вопросы — наши ответы!

Экспертная поддержка в области научно-медицинских вопросов

Сервис научно-медицинской информации для специалистов здравоохранения



Используя медицинский сервис **myMedInfo**, ООО «Такеда Фармасьютикалс» предоставит специалистам здравоохранения запрашиваемую информацию для повышения качества диагностики и лечения пациентов

Задать вопрос Вы можете:



Через форму на сайте:
http://takeda.info/myMedInfo_ru или через QR-код



По телефону бесплатной горячей линии:
8 (800) 555 55 79



По электронной почте: Russia@takeda.com



Задать вопрос
через QR-код

Какие вопросы можно задать через MyMedInfo?

Вопросы, касающиеся препаратов, выпускаемых ООО «Такеда Фармасьютикалс», и следующих тем:

- нежелательная реакция на препарат;
- данные об эффективности и безопасности препарата;
- научные исследования;
- программы раннего доступа к препарату;
- диагностические программы;
- пациентские сервисы;
- доступность препарата в интересующем регионе;
- статус регистрации препарата и другие научно-медицинские вопросы, связанные с деятельностью компании.

Данный материал предназначен для специалистов здравоохранения. Сообщения о нежелательном явлении или особой ситуации на препараты компании Такеда, пожалуйста, направьте по адресу электронной почты AE.Russia@takeda.com или по телефону +74959335511.

ООО «Такеда Фармасьютикалс»
ул. Усачева, д. 2, стр. 1, 119048, г. Москва, Россия
Тел: + 7 (495) 933-55-11, Факс: +7 (495) 502-16-25
www.takeda.com/ru-ru
Дата разработки: ноябрь 2022 г.
VV-MEDMAT-77809

