

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ БЛАСТНЫХ КЛЕТОК С ДОСТИЖЕНИЕМ РЕМИССИИ ПРИ ОСТРОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ У ДЕТЕЙ

А.Д. Палладина¹, А.В. Попа², В.Г. Никитаев³, К.Л. Кондратчик⁴, Н.А. Купрышина¹, И.Н. Серебрякова¹,
Т.В. Шведова¹, О.А. Чернышева¹, М.А. Шервашидзе¹, Н.Н. Тупицын¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1а;

³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»;
Россия, 115409 Москва, Каширское шоссе, 31;

⁴ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы»;
Россия, 119049 Москва, 4-й Добрынинский пер., 1/9

Контакты: Александра Дмитриевна Палладина palladinaa@gmail.com

Введение. Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) — клональное заболевание системы крови, которое возникает вследствие мутаций генетического аппарата гемопоэтических клеток-предшественников. В результате мутаций линейная дифференцировка клеток гемопоэза сменяется пролиферацией злокачественных миелоидных предшественников. В настоящее время группа риска при ОМЛ у детей определяется главным образом наличием специфических генных и хромосомных поломок и повышенным уровнем лейкоцитов периферической крови. Особенности иммунофенотипа бластных клеток могут также оказывать влияние на течение заболевания.

Цель исследования — оценить взаимосвязь иммунофенотипических параметров бластных клеток с вероятностью достижения ремиссии при ОМЛ у детей.

Материалы и методы. В исследование включены 109 пациентов в возрасте от 3 мес до 17 лет, которые получали лечение по протоколам AML BFM 87, AML BFM 2004, НИИ ДОГ ОМЛ 2007 и НИИ ДОГ ОМЛ 2012 в период с 1991 по 2020 г.

Результаты. В ходе исследования была показана взаимосвязь между вероятностью достижения ремиссии и наличием на опухолевых клетках маркеров CD33, CD19 и CD14. Экспрессия на бластах лимфоидного антигена CD19 ассоциировалась с большей частотой достижения ремиссий (73,0 % vs 95,5 %, $p = 0,027$). Отсутствие линейно-ассоциированного миелоидного маркера CD33 негативно коррелировало с частотой ремиссий (61,1 % vs 87,7 %, $p = 0,007$). При наличии на бластах моноцитарного антигена CD14 вероятность достижения ремиссии была низкой (95 % vs 50 %, $p = 0,013$).

Заключение. Особенности иммунофенотипа опухолевых клеток при ОМЛ у детей взаимосвязаны с вероятностью достижения ремиссии.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, CD33, CD19, CD14, ремиссия

Для цитирования: Палладина А.Д., Попа А.В., Никитаев В.Г. и др. Взаимосвязь иммунофенотипических особенностей бластных клеток с достижением ремиссии при остром миелоидном лейкозе у детей. Российский биотерапевтический журнал 2020;19(4):45–53.

DOI: 10.17650/1726-9784-2020-19-4-45-53



RELATIONSHIP OF BLAST CELL IMMUNOPHENOTYPE WITH REMISSION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN CHILDREN

A.D. Palladina¹, A.V. Popa², V.G. Nikitaev³, K.L. Kondratchik⁴, N.A. Kupryshina¹, I.N. Serebryakova¹, T.V. Shvedova¹,
O.A. Chernysheva¹, M.A. Shervashidze¹, N.N. Tupitsyn¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia;
24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1a Ostrovitianov St., Moscow 117997, Russia;

³National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute); 31 Kashirskoe Shosse, Moscow 115409, Russia;

⁴Moscow state budgetary healthcare institution “Morozov Children’s City Clinical Hospital of the Moscow City Healthcare Department”; 1/9 4th Dobryninsky lane, Moscow 119049, Russia

Introduction. Acute myeloid leukemia (AML) is a clonal disease of the blood system that occurs as a result of mutations in the genome of hematopoietic progenitor cells. As a result of mutations, the linear differentiation of hematopoietic cells is replaced by the proliferation of malignant myeloid progenitors. Currently, the risk group for AML in children is determined mainly by the presence of specific gene and chromosomal abnormalities and an increased level of peripheral blood leukocytes. The features of the immunophenotype of blast cells can also influence the course of the disease.

The aim of the work is to assess the relationship between the immunophenotypic parameters of blast cells and the probability of achieving remission in children with AML.

Materials and methods. The study included 109 patients aged 3 months to 17 years who received treatment according to the AML BFM 87, AML BFM 2004, NII DOG AML 2007 и NII DOG AML 2012 protocol in the period from 1991 to 2020.

Results. The study showed the relationship between the probability of achieving remission and the presence of markers CD33, CD19 and CD14 on tumor cells. Expression of lymphoid antigen CD19 on blasts was associated with a higher rate of remission (73.0 % vs 95.5 %, $p = 0.027$). The absence of the linearly associated myeloid marker CD33 negatively correlated with the remission rate (61.1 % vs 87.7 %, $p = 0.007$). In the presence of monocyte antigen CD14 on blasts, the probability of achieving remission was low (95 % vs 50 %, $p = 0.013$).

Conclusion. Characteristics of the immunophenotype of tumor cells in AML in children are associated with the probability of achieving remission.

Keywords: Acute myeloid leukemia, CD33, CD19, CD14, remission

For citation: A.D. Palladina, A.V. Popa, V.G. Nikitaev et al. Relationship of blast cell immunophenotype with remission in acute myeloid leukemia in children. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2020;19(4):45–53. (In Russ.).

Введение

Иммунофенотипирование бластной популяции при диагностике острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) является рутинным исследованием и дополняет данные, получаемые при морфологическом, цитохимическом и цитогенетическом исследованиях опухолевых клеток. Иммунофенотипирование — единственный способ, который позволяет дифференцировать ОМЛ с минимальной дифференцировкой (M0), эритробластный (M6) и мегакариоцитарный (M7) варианты от лимфобластного лейкоза, выявить смешанно-линейный острый лейкоз и определиться с линейностью заболевания в случаях, когда анализируемый материал беден клеточными элементами. Подробное иммунофенотипирование бластных клеток в дебюте заболевания позволяет выявить aberrантность экспрессии иммунологических маркеров, на основании которой возможна количественная оценка остаточной опухоли в костном мозге после лечения. Особенности иммунофенотипа опухолевых клеток по-разному отражаются на прогнозе ОМЛ. В данной статье проанализировано значение отдельных поверхностных маркеров бластных клеток при ОМЛ для достижения полной клинко-гематологической ремиссии (ПР) при ОМЛ у детей.

Существуют противоречивые данные о значении иммунологических факторов для прогноза при ОМЛ. Большинство из них получены в результате анализа ОМЛ взрослых. Представляет интерес оценка взаимосвязи иммунофенотипического «портрета» бластных клеток и течения болезни.

Цель исследования — оценить взаимосвязь иммунофенотипических параметров бластных клеток с вероятностью достижения ПР при ОМЛ у детей.

Материалы и методы

Проанализированы данные 109 детей, больных ОМЛ, получавших лечение в период с 1991 по 2020 г. в НИИ ДОГ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (по протоколам AML BFM 87, AML BFM 2004, НИИ ДОГ ОМЛ 2007 и НИИ ДОГ ОМЛ 2012) и ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы» (по протоколу AML BFM 2004). Возраст детей на момент постановки диагноза составлял от 3 мес до 17 лет.

Протоколы НИИ ДОГ ОМЛ 2012 и AML BFM 2004 состояли из 4–5 курсов химиотерапии. Для больных со стандартным риском лечение включало 4 курса: AIE (цитозинарабинозид (Ara-C), идарубицин (IDA), этопозид), AI (Ara-C, IDA), hAM (Ara-C 1000 мг/м² № 6, митоксантрон) и HAE (Ara-C 3000 мг/м² № 6, этопозид). У пациентов, включенных в группы промежуточного и высокого рисков, химиотерапия состояла из 5 курсов: AIE (Ara-C, IDA, этопозид), HAM (Ara-C 3000 мг/м² № 6, митоксантрон), AI (Ara-C 500 мг/м² 1–5-й дни и IDA), hAM (Ara-C 1000 мг/м² и митоксантрон) и HAE (Ara-C 3000 мг/м² № 6 и этопозид). Поддерживающая терапия состояла из постоянного приема 6-меркаптопурина (6-МП), 4-дневных курсов Ara-C 1 раз в 28 дней и длилась до 73-й недели от начала индуктивного курса.

Протокол AML BFM 87 состоял из индукции ремиссии длительностью 8 дней, включавшей Ara-C 100 мг/м²/сут внутривенно (в/в) капельно 24 ч 1–2-й дни, 100 мг/м² в/в капельно в течение 1 ч каждые 12 ч 3–8-й дни, даунорубицин 60 мг/м²/сут в/в капельно 1 ч 3–5-й дни и вепезид (VP-16) 150 мг/м²/сут в/в капельно 2 ч 6–8-й дни; консолидации ремиссии —

Ara-C 75 мг/м²/сут в/в струйно 3–6-й, 10–13-й, 17–20-й и 24–27-й дни, даунорубин 30 мг/м²/сут в/в капельно в течение 2 ч 1, 8, 15 и 22-й дни, 6-МП 60 мг/м²/сут внутрь ежедневно 1–27-й дни; 2 курсов ранней интенсификации – Ara-C 1000 мг/м² в/в капельно каждые 12 ч 1–3-й дни и VP-16 125 мг/м²/сут в/в капельно 2–5-й дни.

Пациентам стандартной группы риска в протоколе ОМЛ НИИ ДОГ 2007 эпигенетические препараты были включены только в поддерживающую терапию. Индукция ремиссии состояла из Ara-C 100 мг/м²/сут в/в капельно 24 ч 1–2-й дни и 100 мг/м² в/в капельно каждые 12 ч 3–8-й дни, VP-16 150 мг/м²/сут в/в капельно 2 ч 6–8-й дни, IDA 12 мг/м²/сут в/в капельно 1 ч 3–5-й дни. С целью профилактики поражения ЦНС вводился Ara-C интратекально в дозах в зависимости от возраста в 1-й день химиотерапии. При лейкомическом поражении ЦНС, которое подтверждалось клинически и/или морфологически, а также с помощью компьютерной томографии, вводились интратекально 3 препарата. В терапию консолидации ремиссии были включены следующие химиопрепараты: Ara-C 75 мг/м²/сут в/в струйно 3–6-й, 10–13-й, 17–20-й и 24–27-й дни, рубомицин/даунорубин 30 мг/м²/сут в/в капельно в течение 2 ч 1, 8, 15 и 22-й дни, 6-МП 60 мг/м²/сут внутрь ежедневно 1–27-й дни. Два курса интенсификации с интервалом в 2 нед, состоящие из высоких доз Ara-C 1000 мг/м² в/в капельно каждые 12 ч 1–3-й дни и VP-16 125 мг/м²/сут в/в капельно в течение 2 ч 2–5-й дни. После окончания интенсификации II при инициальном лейкозном поражении ЦНС проводилось облучение головного мозга в суммарной очаговой дозе 18 Гр. Облучение ЦНС проводилось больным с t(16;16) или inv(16) без инициального поражения ЦНС в суммарной лучевой дозе 12 Гр, разовой очаговой дозе 2 Гр. Далее больные получали поддерживающую терапию, включающую 6-МП 40 мг/м²/сут ежедневно до 78-й недели, Ara-C 40 мг/м²/сут 1 раз в день 4-дневным курсом каждые 28 дней, депакин 25 мг/кг ежедневно до 78-й недели, весаноид 25 мг/м² ежедневно сразу после окончания интенсификации II в течение 43 дней.

Пациенты со средним и высоким риском ОМЛ с 1-го дня получали эпигенетическое лечение (депакин 25 мг/кг/сут внутрь ежедневно в течение всего курса терапии и весаноид 25 мг/м²/день внутрь 1–45-й дни) вместе с химиотерапией. Индукция ремиссии включала 2 курса химиотерапии – AIE и HAM. Курс AIE (Ara-C 100 мг/м²/сут в/в капельно 24 ч 1–2-й дни и 100 мг/м² в/в капельно каждые 12 ч 3–8-й дни, IDA 12 мг/м²/сут в/в капельно 3–5-й дни, VP-16 150 мг/м²/сут в/в капельно 6–8-й дни). С целью профилактики поражения ЦНС вводился Ara-C интратекально в дозах в зависимости от возраста

в 1-й день химиотерапии. Консолидация ремиссии проводилась больным, у которых по окончании индукции ремиссии в костном мозге было менее 15 % бластных клеток. Она включала введение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора 5 мкг/кг в день подкожно 1–7-й дни, Ara-C 2000 мг/м²/сут в/в капельно 2–6-й дни, флударабина 30 мг/м² в/в капельно 2–6-й дни, депакина 25 мг/кг внутрь ежедневно, весаноида 25 мг/м² ежедневно 1–14-й дни. Курс ранней интенсификации проводился больным, достигшим ремиссии к 21-му дню от окончания блока индукции, и состоял из Ara-C 3000 мг/м² в/в капельно каждые 12 ч 1–3-й дни, VP-16 125 мг/м²/сут в/в капельно 3–5-й дни, депакина 25 мг/кг ежедневно без перерывов внутрь, весаноида 25 мг/м²/день внутрь ежедневно 1–14-й дни.

С профилактической и лечебной целью эндолумбально химиопрепараты вводились на 5-й день курса в ранее указанных дозировках. По окончании основного лечения проводилась поддерживающая терапия, включающая прием 6-МП 40 мг/м²/сут ежедневно до 78-й недели от начала терапии индукции ремиссии, Ara-C 40 мг/м²/сут 1 раз в день подкожно 4-дневным курсом каждые 28 дней, депакина 25 мг/кг ежедневно внутрь до 78-й недели от начала терапии индукции ремиссии, весаноида 25 мг/м² ежедневно внутрь сразу после окончания интенсификации II 14-дневными курсами в течение 43 дней. Поддерживающую терапию не получали больные, которым была проведена аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Диагноз ОМЛ устанавливался на основании клинико-гематологических показателей, морфологического, цитохимического и иммунофенотипического исследований костного мозга.

Результаты

Полная клинико-гематологическая ремиссия является ключевым понятием в лечении ОМЛ у детей,

Таблица 1. Показатели достижения полной клинико-гематологической ремиссии (ПР) в анализируемой группе детей, больных острым миелоидным лейкозом

Table 1. The frequency of achieving complete remission (CR) in the analyzed group of children with acute myeloid leukemia

Факт наличия ПР Presence of CR	Число больных Number of patients	%
Достигнута Achieved	88	80,7
Не достигнута Not achieved	21	19,3
Всего Total	109	100

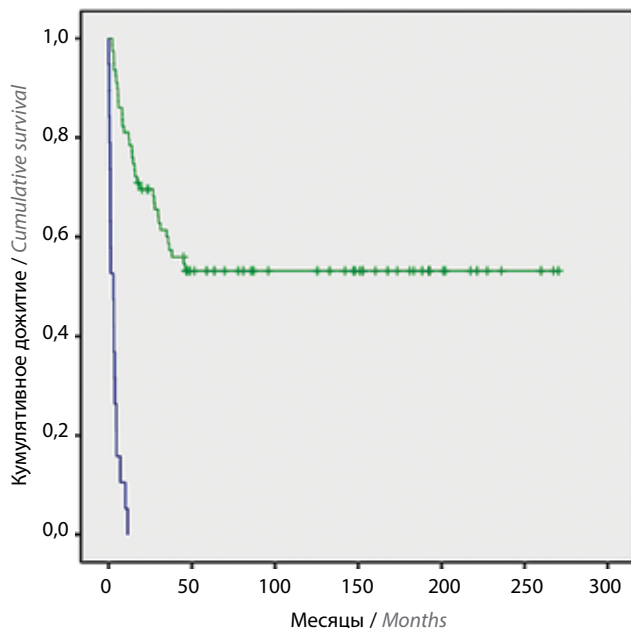


Рис. 1. Кривые общей выживаемости детей, больных острым миелоидным лейкозом, в зависимости от достижения полной клинико-гематологической ремиссии (ПР). Кривая зеленого цвета — выживаемость больных, у которых достигнута ПР ($n = 79$), кривая синего цвета — выживаемость больных, у которых ПР не достигнута ($n = 19$), где n — число оцениваемых больных. Различия по каждому из 3 тестов (Лог-ранк, Тарон-Уорре, Бреслоу) высокостатистически значимы, $p = 0,000$

Fig. 1. Curves of overall survival of children with acute myeloid leukemia, depending on the achievement of complete remission (CR). The green curve — survival rate of patients who achieved CR ($n = 79$), the blue curve — survival rate of patients in whom CR has not been achieved ($n = 19$), n — number of patients. Differences for each of the three tests (Log-rank, Taron-Ware, Breslow) are highly significant, $p = 0.000$

ее достижение — главный прогностический фактор при острых лейкозах. В нашем исследовании ПР была достигнута у 88 из 109 детей, больных ОМЛ (80,7 %) (табл. 1).

Прогностическая значимость достижения ПР при ОМЛ у детей

У 98 детей из исследуемой группы была оценена общая выживаемость. Достижение ПР оказалось очень значимым фактором прогноза при оценке общей выживаемости (рис. 1).

Взаимосвязь клинико-гематологических и морфоцитохимических факторов с частотой достижения ПР

Проведена оценка взаимосвязи возраста и пола пациентов с фактом достижения ПР при ОМЛ. В анализируемой группе (106 больных) было 96 детей старше 1 года и 10 детей младше года. Частота ПР в этих возрастных группах составила 81,2 и 80,0 % соответственно, достоверной взаимосвязи с возрастом не обнаружено: Хи-квадрат 0,009; $p = 0,92$.

Аналогично не отмечено связи и с полом пациентов. В анализируемой группе было 68 мальчиков и 41 девочка. Среди мальчиков ПР достигнута в 52 случаях (76,5 %), среди девочек — в 36 (87,8 %). Взаимосвязь недостоверна, Хи-квадрат 2,1; $p = 0,14$.

Сопоставление частоты ПР с вариантом ОМЛ по Франко-Американо-Британской (ФАБ) классификации проведено среди 84 больных. Распределение ФАБ-вариантов ОМЛ в анализируемой группе отражено в табл. 2, из которой видно, что наиболее частыми были варианты М2 (26,2 %) и М4 (20,2 %).

Таблица 2. Распределение ФАБ-вариантов острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) в анализируемой группе

Table 2. Frequency of FAB-variants of acute myeloid leukemia (AML) in the analyzed group

ФАБ-вариант ОМЛ FAB-variant of AML	Число больных Number of patients	%
M0	7	8,3
M1	9	10,7
M2	22	26,2
M3	7	8,3
M4	17	20,2
M5	10	11,9
M6	2	2,4
M7	10	11,9
Итого Total	84	100,0

Примечание. Здесь и в табл. 3, 8: ФАБ-вариант — вариант острого миелоидного лейкоза по Франко-Американо-Британской классификации.

Note. Here and in table 3, 8: FAB-variant — French-American-British classification' variant of acute myeloid leukemia.

При сопоставлении ФАБ-вариантов ОМЛ с частотой достижения ПР получены результаты, представленные в табл. 3.

Достоверной связи варианта ОМЛ с частотой достижения ПР нами не установлено, Хи-квадрат 7,0; $p = 0,42$.

Таким образом, ни один из проанализированных клинических факторов, а также морфоцитохимических показателей (вариант ОМЛ) не был достоверно взаимосвязан с частотой достижения ПР у детей, больных ОМЛ.

Прогностическая значимость иммунофенотипа бластных клеток при ОМЛ

При диагностике ОМЛ у детей использована широкая панель иммунологических маркеров, в последние годы в значительной степени соответствующая предложенным ЕвроФлоу панелям 8-цветного окрашивания

Таблица 3. Взаимосвязь FAB-варианта острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) с достижением полной клинико-гематологической ремиссии (ПР)

Table 3. Relationship between the FAB-variant of acute myeloid leukemia (AML) and the achievement of complete remission (CR)

ФAB-вариант ОМЛ FAB-variant of AML	ПР не достигнута, n (%) CR not reached, n (%)	ПР достигнута, n (%) CR achieved, n (%)	Всего, n (%) Total, n (%)
M0	1 (14,3)	6 (85,7)	7 (100,0)
M1	0 (0,0)	9 (100,0)	9 (100,0)
M2	3 (13,6)	19 (86,4)	22 (100,0)
M3	1 (14,3)	6 (85,7)	7 (100,0)
M4	4 (23,5)	13 (76,5)	17 (100,0)
M5	4 (40,0)	6 (60,0)	10 (100,0)
M6	0 (0,0)	2 (100,0)	2 (100,0)
M7	3 (30,0)	7 (70,0)	10 (100,0)

Примечание. Здесь и в табл. 5–8: n – число больных.
Note. Here and in table 5–8: n – number of patients.

Таблица 4. Частота использования маркеров при постановке диагноза острого миелоидного лейкоза (ОМЛ)

Table 4. Frequency of the markers' usage in the diagnosis of acute myeloid leukemia (AML)

Маркер Marker	Число случаев ОМЛ с экспрессией маркера/общее число случаев оценки маркера AML with marker expression/total number of marker evaluations	% ОМЛ с наличием маркера % of AML with marker expression
CD7	17/72	23,6
CD34	54/96	49,5
CD117	33/40	82,5
CD13	77/100	77,0
CD33	81/99	81,8
CD19	22/85	25,9
CD38	40/52	76,9
HLA-DR	70/87	80,5
CD64	23/63	36,5
CD14	4/24	16,7
CD56	21/55	38,2
CD10	3/71	4,2

при проточно-цитометрической диагностике. Частота использования различных маркеров в группе больных, у которых факт достижения или отсутствия ПР был подтвержден, приведена в табл. 4.

Из табл. 4 видно, что с наибольшей частотой на клетках ОМЛ у детей экспрессировались общемиелоидные маркеры (CD33, CD13), а также антигены HLA-DR, CD117, CD38. Антиген стволовых клеток CD34 обнаруживался в половине случаев. Следует отметить и достаточно высокую частоту экспрессии лимфоидно-ассоциированных антигенов (CD7, CD19), а также CD56 в анализируемой группе больных.

Среди проанализированных иммунологических маркеров только 3 (CD33, CD19 и CD14) имели достоверную связь с достижением ПР. Приводим эти данные.

CD33

Антиген CD33, или Siglec-3, – трансмембранный гликопротеин, расположенный на поверхности миелоидных клеток. CD33 является молекулой адгезии, связывается с сиаловой кислотой, поэтому относится к семейству белков SIGLEC группы лектинов. Экспрессируется на миелобластах, промиелоцитах, миелоцитах, моноцитах и, менее ярко, – на гранулоцитах. Присутствует на поверхности бластных клеток в 80–90 % случаев ОМЛ.

Взаимосвязь между достижением ПР при ОМЛ у детей и экспрессией антигена CD33 была высокодостоверной ($p = 0,007$) (табл. 5).

Таблица 5. Взаимосвязь достижения полной клинико-гематологической ремиссии (ПР) при остром миелоидном лейкозе у детей с экспрессией Siglec-3 (CD33) на бластных клетках

Table 5. Relationship between achieving complete remission (CR) in acute myeloid leukemia in children with expression of Siglec-3 (CD33) on blast cells

Экспрессия CD33 CD33 expression	ПР не достигнута, n (%) CR not reached, n (%)	ПР достигнута, n (%) CR achieved, n (%)	Всего, n (%) Total, n (%)
Отсутствует Absence	7 (38,9)	11 (61,1)	18 (100)
Присутствует Presence	10 (12,3)	71 (87,7)	81 (100)

Частота ПР в CD33-позитивных случаях составила 87,7 %, а в CD33-негативных – на 26 % меньше (61,1 %), различия высокодостоверны: $p = 0,007$.

Несмотря на высокую ассоциацию CD33 с достижением ПР, связи с общей выживаемостью этот антиген не имел ($p = 0,104–0,139$), хотя различия были близки к достоверным (рис. 2).

При рассмотрении кривых выживаемости в зависимости от экспрессии CD33 на бластных клетках ОМЛ обращает на себя внимание тот факт, что кривые выживаемости расходятся после 4 лет наблюдения.

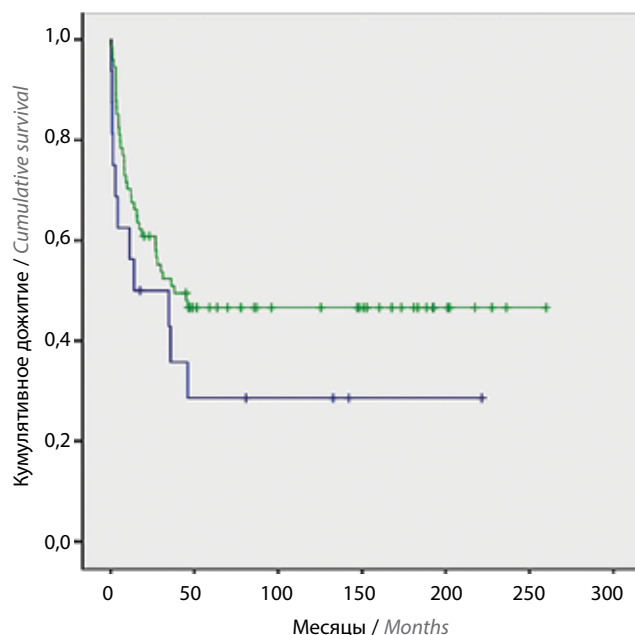


Рис. 2. Кривые общей выживаемости детей, больных острым миелоидным лейкозом, в зависимости от наличия антигена CD33 на бластных клетках. Кривая зеленого цвета — выживаемость больных, у которых CD33 присутствовал на бластных клетках ($n = 81$), кривая синего цвета — выживаемость больных с отсутствием CD33 на бластах ($n = 18$), где n — оцениваемое число больных. Различия незначительны (Лог-ранк: $p = 0,39$; Бреслоу: $p = 0,104$; Тарон-Уор: $p = 0,121$)

Fig. 2. Curves of overall survival of children with acute myeloid leukemia, depending on the presence of the CD33 antigen on blast cells. The green curve — survival rate of patients in whom CD33 was present on blast cells ($n = 81$), the blue curve — survival rate of patients in whom CD33 was absent on blasts ($n = 18$), n — number of patients. The differences are insignificant, Log-rank: $p = 0.39$; Breslow: $p = 0.104$; Taron-Ware: $p = 0.121$)

CD14

Антиген CD14 представляет собой одноцепочечный мембранный гликозилфосфатидилинозитол-связанный гликопротеин, входит в состав рецепторного комплекса, распознающего липополисахарид. Выраженная экспрессия антигена CD14 наблюдается на поверхности моноцитов, макрофагов, слабая экспрессия — на поверхности гранулоцитов. Анализ частоты ПР в зависимости от экспрессии CD14 представлен в табл. 6.

Частота ПР в CD14-негативных случаях была на 45 % выше, чем при наличии на бластах CD14, $p = 0,013$.

Лишь в соответствии с тестом Бреслоу различия в выживаемости в зависимости от экспрессии CD14 были достоверны, $p = 0,032$ (рис. 3). Экспрессия CD14 была ассоциирована с неблагоприятным прогнозом. Следует отметить, что количество больных в CD14-положительной группе было крайне мало (4 ребенка).

CD19

Антиген CD19 представляет собой мембранный гликопротеин I типа. CD19 — это молекула сигналь-

Таблица 6. Взаимосвязь достижения полной клинико-гематологической ремиссии (ПР) при остром миелоидном лейкозе у детей с экспрессией CD14 на бластных клетках

Table 6. Relationship between achieving complete remission (CR) in acute myeloid leukemia in children with CD14-expression on blast cells

Экспрессия CD14 CD14-expression	ПР не достигнута, n (%) CR not reached, n (%)	ПР достигнута, n (%) CR achieved, n (%)	Всего, n (%) Total, n (%)
Отсутствует Absence	1 (5,0)	19 (95,0)	20 (100)
Присутствует Presence	2 (50,0)	2 (50,0)	4 (100)

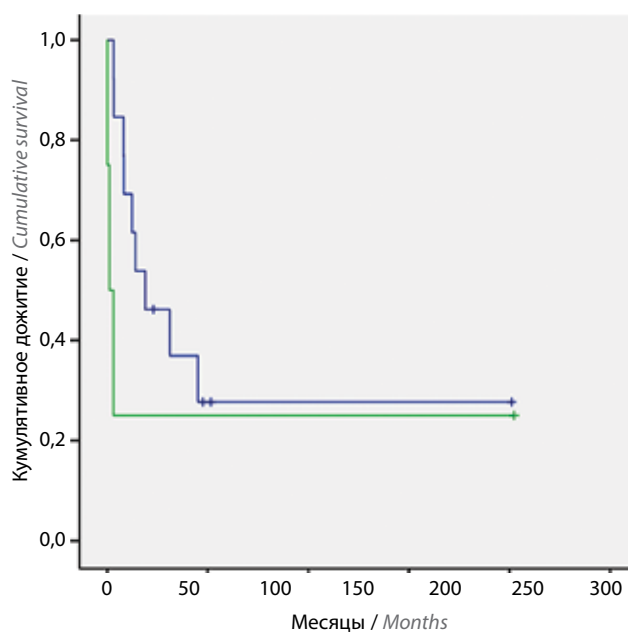


Рис. 3. Кривые общей выживаемости детей, больных острым миелоидным лейкозом, в зависимости от наличия антигена CD14 на бластных клетках. Кривая синего цвета — выживаемость больных, у которых CD14 отсутствовал на бластных клетках ($n = 20$), кривая зеленого цвета — выживаемость больных с наличием CD14 на мембране бластов ($n = 4$), где n — оцениваемое число больных. Различия достоверны только по данным теста Бреслоу (Лог-ранк: $p = 0,221$; Бреслоу: $p = 0,032$; Тарон-Уор: $p = 0,083$)

Fig. 3. Curves of overall survival of children with acute myeloid leukemia, depending on the presence of CD14 antigen on blast cells. The blue curve — the survival rate of patients in whom CD14 was absent on blast cells ($n = 20$), the green curve corresponds to patients who did not have CD14 on their blasts ($n = 4$), n — number of patients. The differences are significant only according to the Breslow test (Log-rank: $p = 0.221$; Breslow: $p = 0.032$; Taron-Ware: $p = 0.083$)

ной трансдукции, которая в составе В-клеточного рецептора регулирует процесс развития, активации и дифференцировки лимфоцитов; экспрессируется на поверхности всех нормальных В-лимфоцитов, как предшественников, так и зрелых клеток, а также

Таблица 7. Взаимосвязь достижения полной клинико-гематологической ремиссии (ПР) при остром миелоидном лейкозе у детей с экспрессией CD19 на бластных клетках

Table 7. Relationship between achieving complete remission (CR) in acute myeloid leukemia in children with CD19-expression on blast cells

Экспрессия CD19 CD19 expression	ПР не достигнута, <i>n</i> (%) CR not reached, <i>n</i> (%)	ПР достигнута, <i>n</i> (%) CR achieved, <i>n</i> (%)	Всего, <i>n</i> (%) Total, <i>n</i> (%)
Отсутствует Absence	17 (27,0)	46 (73,0)	63 (100)
Присутствует Presence	1 (4,5)	21 (95,5)	22 (100)

на нормальных плазматических клетках. Антиген может присутствовать на поверхности фолликулярных дендритических клеток и ранних клеток миело-моноцитарной линии. Он отсутствует на поверхности Т-лимфоцитов, НК-клеток, моноцитов и гранулоцитов. Это обще-В-клеточный антиген, который в ряде случаев экспрессируется на клетках ОМЛ. Анализ частоты ПР в зависимости от экспрессии CD19 проведен среди 85 больных (табл. 7).

В данной когорте больных коэкспрессия на бластных клетках лимфоидного антигена CD19 была ассоциирована с достоверно более вероятным достижением ПР: из 22 случаев коэкспрессии лишь 1 был рефрактерным, $p = 0,027$.

Важно подчеркнуть, что в анализируемой группе больных экспрессия CD19 не имела достоверной ассоциации с морфо-цитохимическим вариантом ОМЛ (табл. 8).

Таблица 8. Сопоставление FAB-варианта острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) с коэкспрессией на бластах CD19

Table 8. Matching of the FAB-variant of acute myeloid leukemia (AML) with co-expression of CD19 on the blasts

FAB-вариант ОМЛ FAB-variant of AML	ОМЛ с коэкспрессией CD19, <i>n</i> (%) AML with co-expression CD19, <i>n</i> (%)		Всего, <i>n</i> (%) Total, <i>n</i> (%)
	CD19 ⁻	CD19 ⁺	
M0	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100,0)
M1	7 (77,8)	2 (22,2)	9 (100,0)
M2	12 (63,2)	7 (36,8)	19 (100,0)
M3	4 (80,0)	1 (20,0)	5 (100,0)
M4	15 (93,8)	1 (6,2)	16 (100,0)
M5	7 (77,8)	2 (22,2)	9 (100,0)
M6	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100,0)
M7	5 (71,4)	2 (28,6)	7 (100,0)
Итого Total	52 (77,6)	15 (22,4)	67 (100,0)

Обсуждение

Иммунофенотипирование бластных клеток при первичной диагностике острых лейкозов в настоящее время стало рутинным и обязательным исследованием. Влияние отдельных маркеров и их сочетаний на прогноз носит противоречивый характер. Исследований, посвященных прогностическому влиянию иммунофенотипа бластов при ОМЛ у детей, мало, что объясняется главным образом редкостью этого заболевания для детского возраста — его частота составляет примерно 0,7–1,2 случая на 100 тыс. детей в год, или около 20 % от общего числа детских лейкозов [1]. В настоящее время риск-стратификация детей с ОМЛ производится на основании инициального лейкоцитоза и генетических аномалий. Однако генетические aberrации с известным в настоящее время влиянием на прогноз ОМЛ детского возраста обнаруживаются лишь в 35–52 % случаев [2–6]. Поиск надежных факторов, позволяющих уточнить стратификацию пациентов на группы риска, продолжается, и, наряду с хромосомными и генными аномалиями, интерес представляют aberrации иммунофенотипа опухолевых бластов.

Известно, что некоторые из антигенов на поверхности бластных клеток имели значение для течения ОМЛ, вероятности достижения ПР и выживаемости. Однако исследования в основном включают данные взрослых пациентов с ОМЛ, описания влияния иммунофенотипических маркеров на течение и прогноз ОМЛ детского возраста — единичны [7].

Коэкспрессия на миелобластах лимфоидных маркеров в различных исследованиях ассоциировалась как с лучшими, так и с худшими показателями прогноза. Так, в исследовании R.O. Casasnovas и соавт. наличие CD19 ухудшало прогноз, а в работе E.D. Ball и соавт. при коэкспрессии CD19 наблюдались более частое достижение ПР и более длительная общая выживаемость [8, 9]. Также в недавней работе японских исследователей коэкспрессия CD19 оказала позитивное влияние на частоту достижения ПР [10]. При этом известно, что антиген CD19 достоверно ассоциирован с благоприятной хромосомной аномалией t(8;21) [11]. По нашим данным, коэкспрессия

CD19 на бластных клетках при ОМЛ у детей явилась фактором благоприятного прогноза — при ее наличии частота достижения ПР была выше, чем при ее отсутствии. Поскольку CD19 является лимфоидно-ассоциированным антигеном, мониторинг минимальной остаточной болезни в случаях CD19⁺ ОМЛ может осуществляться на основании экспрессии данного антигена.

В нашей работе отсутствие CD33 было связано с более низкой вероятностью достижения ПР. В целом в большинстве исследований наличие CD33 либо не имело значения для прогноза, либо улучшало его [12, 13].

CD14 чаще всего бывает коэкспрессирован на бластах при миеломоно- и монобластном вариантах ОМЛ (M4, M5 согласно ФАБ-классификации). В исследуемой нами когорте больных CD14 достоверно ($p = 0,037$) ассоциирован с вариантом M4 по ФАБ-классификации, ассоциации с вариантом M5 не обнаружено. В большинстве работ CD14 показал негативное значение для достижения ПР и выживаемости

[14, 15]. Наши данные подтверждают неблагоприятную роль экспрессии CD14 и при ОМЛ у детей.

В целом можно отметить, что ОМЛ является чрезвычайно гетерогенным заболеванием, и оценка ряда новых подходов, в частности, компьютерного моделирования с использованием баз знаний и экспертных систем искусственного интеллекта, основанных на морфологических и иммунофенотипических признаках клеток, может способствовать дальнейшему уточнению критериев минимальной остаточной болезни [16, 17].

Заключение

Полученные данные достоверно подтверждают значимость особенностей иммунофенотипа бластных клеток при ОМЛ у детей для достижения ПР. Это указывает на необходимость дальнейшего анализа клинических и иммунофенотипических данных детей с ОМЛ для поиска новых факторов риска и определения значимости отдельных маркеров и их сочетаний при обнаружении их в ходе измерения минимальной остаточной болезни.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Масчан А.А., Масчан М.А., Новичкова Г.А. и др. Клинические рекомендации. Острые миелоидные лейкозы. Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2020. С. 12–13. [Maschan A.A., Maschan M.A., Novichkova G.A. et al. Clinical recommendations. Acute myeloid leukemia. Ministry of Health of Russia, 2020. Pp. 12–13. (In Russ.)]
2. Coustan-Smith E., Song G., Shurtlef S. et al. Universal monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia. JCI Insight 2018;3(9):e98561. DOI: 10.1172/jci.insight.98561
3. Papaemmanuil E., Gerstung M., Bullinger L. et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. N Engl J Med 2016;374:2209–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1516192.
4. Schuurhuis G.J., Heuser M., Freeman S. et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. Blood 2018;131(12):1275–91. DOI: 10.1182/blood-2017-09-801498.
5. Döhner H., Estey E., Grimwade D. et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood 2017;129(4):424–47. DOI: 10.1182/blood-2016-08-733196.
6. Jongen-Lavrencic M., Grob T., Hanekamp D. et al. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. N Engl J Med 2018;378(13):1189–99. DOI: 10.1056/NEJMoa1716863.
7. Creutzig U., Harbott J., Sperling C. et al. Clinical significance of surface antigen expression in children with acute myeloid leukemia: results of study AML-BFM-87. Blood 1995;86(8):3097–3108. PMID: 7579404.
8. Casasnovas R.O., Solary E., Campos L. et al. Prognostic Relevance of Surface Markers in Adult de novo Acute Myeloblasts Leukemias: A Prospective Study of the Groupe d'Etude Immunologique des Leucemies (G.E.I.L.). Leukemia & Lymphoma 1994;13:7–10. DOI: 10.3109/10428199409052665.
9. Ball E.D., Davis R.B., Griffin J.D. et al. Prognostic value of lymphocyte surface markers in acute myeloid leukemia. Blood 1991;77(10):2242–50. PMID: 1709379.
10. Noriyoshi Iriyama, Yoshihiro Hatta, Jin Takeuchi et al. CD56 expression is an independent prognostic factor for relapse in acute myeloid leukemia with t(8;21). Leukemia Research 2013;37(9):1021–26. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.05.002.
11. Kita K., Nakase K., Miwa H. et al. Phenotypical characteristics of acute myelocytic leukemia associated with the t(8;21)(q22;q22) chromosomal abnormality: frequent expression of immature B-cell antigen CD19 together with stem cell antigen CD34. Blood 1992;80:470–7. PMID: 1378322.
12. de Nully Brown P., Jurlander J., Pedersen-Bjergaard J. et al. The prognostic significance of chromosomal analysis and immunophenotyping in 117 patients with de novo acute myeloid leukemia. Leuk Res 1997;21(10):985–95. DOI: 10.1016/s0145-2126(97)00079-9.
13. Campos L., Guyotat D., Archimbaud E. et al. Surface marker expression in adult acute myeloid leukaemia: correlations with initial characteristics, morphology and response to therapy. Br J Haematol 1989;72(2):161–6. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1989.tb07677.x.
14. Bradstock K., Matthews J., Benson E. et al. Prognostic value of immunophenotyping in acute myeloid leukemia. Australian Leukaemia Study Group. Blood 1994;84(4):1220–5. PMID: 8049437.
15. San Miguel J.F., Ojeda E., Gonzalez M. et al. Prognostic value of immunological markers in acute myeloblastic leukemia. Leukemia 1989;3(2):108–11. PMID: 2911203.
16. Nikitaev V.G., Pronichev A.N., Polyakov E.V. et al. Bone marrow cells recognition methods in the diagnosis

of minimal residual disease. Procedia
Computer Science
2020;169:353–58.
DOI: 10.1016/j.procs.2020.02.229.

17. Buldini B., Rizzati F., Masetti R. et al.
Prognostic significance of flow-
cytometry evaluation of minimal residual
disease in children with acute myeloid

leukaemia treated according to the
AIEOP-AML 2002/01 study protocol.
Br J Haematol 2017;177(1):116–26.
DOI: 10.1111/bjh.14523.

Вклад авторов

А.Д. Палладина: получение и анализ иммунологических данных, обзор публикаций, написание текста рукописи, перевод;
А.В. Попа: получение и анализ клинических данных, анализ рукописи;
В.Г. Никитаев: анализ рукописи;
К.Л. Кондратчик: получение и анализ клинических данных;
Н.А. Купрышина, О.А. Чернышева: получение и анализ иммунологических данных;
И.Н. Серебрякова, Т.В. Шведова: получение и анализ морфоцитохимических данных;
М.А. Шервашидзе: получение и анализ клинических данных;
Н.Н. Тупицын: разработка дизайна исследования, анализ данных, анализ и подготовка рукописи.

Authors' contributions

A.D. Palladina: obtaining and analysis of immunological data, review of publications, writing the text of the manuscript, translation;
A.V. Popa: obtaining and analysis of clinical data, analysis of the manuscript;
V.G. Nikitaev: analysis of the manuscript;
K.L. Kondratchik: obtaining and analysis of clinical data;
N.A. Kupryshina, O.A. Chernysheva: obtaining and analysis of immunological data;
I.N. Serebryakova, T.V. Shvedova: obtaining and analysis of morphocytochemical data;
M.A. Shervashidze: obtaining and analysis of clinical data;
N.N. Tupitsyn: research design development, data analysis, analysis and preparation of the manuscript.

ORCID авторов/ORCID of authors

А.Д. Палладина/A.D. Palladina: <https://orcid.org/0000-0002-9400-7347>
А.В. Попа/A.V. Popa: <https://orcid.org/0000-0001-5318-8033>
В.Г. Никитаев/V.G. Nikitaev: <https://orcid.org/0000-0002-4349-3023>
Н.А. Купрышина/N.A. Kupryshina: <https://orcid.org/0000-0001-8509-0954>
И.Н. Серебрякова/I.N. Serebryakova: <https://orcid.org/0000-0002-8389-4737>
О.А. Чернышева/O.A. Chernysheva: <https://orcid.org/0000-0002-9630-5591>
М.А. Шервашидзе/M.A. Shervashidze: <https://orcid.org/0000-0002-8350-4153>
Н.Н. Тупицын/N.N. Tupitsyn: <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-29-09115.

Financing. This work was carried out with the financial support of the RFBR grant № 18-29-09115.

Статья поступила: 30.07.2020. Принята к публикации: 02.10.2020.

Article submitted: 30.07.2020. Accepted for publication: 02.10.2020.