

Факторы риска развития тромботических и геморрагических осложнений при эссенциальной тромбоцитемии

А.А. Жернякова, И.С. Мартынкевич, В.А. Шуваев, Л.Б. Полушкина, М.С. Фоминых, В.Ю. Удальева, И.И. Зотова, Д.И. Шихбабаева, С.В. Волошин, С.С. Бессмельцев, А.В. Чечеткин, К.М. Абдулкадыров

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии» ФМБА России;
Россия, 191024 Санкт-Петербург, 2-я Советская ул., 16

Контакты: Анастасия Андреевна Жернякова zhernyakova.a@mail.ru

Введение. Молекулярно-генетический фенотип (носительство одной из мутаций JAK2V617F (JAK2+), MPL (MPL+), CALR (CALR1+ — 1-й тип, CALR2+ — 2-й тип), его отсутствие — тройной-негативный (ТН) статус при эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ) рассматриваются в качестве фактора, влияющего на развитие тромбогеморрагических осложнений.

Цель исследования — оценить наличие и характер взаимосвязей между молекулярно-генетическими нарушениями, клинико-лабораторными параметрами и развитием осложнений, прогнозом течения ЭТ.

Методы. Проанализированы данные, полученные на этапе диагностики и последующего динамического наблюдения за 240 пациентами с ЭТ (критерии ВОЗ 2008 г.). Исследовались показатели гемограммы, результаты молекулярно-генетических методов: полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) для определения мутации JAK2V617F, полимеразной цепной реакции с последующим анализом ПДРФ (ПЦР-ПДРФ) для выявления мутаций MPL и прямого секвенирования для обнаружения CALR. Регистрировались тромботические и/или геморрагические осложнения: артериальные/венозные тромбозы, острый инфаркт миокарда (ОИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) и кровотечения. Проведен анализ общей выживаемости (ОВ) у пациентов с наличием/отсутствием осложнений, различных групп риска развития тромботических осложнений по шкале риска тромбозов при ЭТ (ВОЗ-ЭТ IPSET-thrombosis).

Результаты. Среди 240 пациентов у 183 (76,3 %) наблюдалось состояние без осложнений (БО), у 57 (23,7 %) развились осложнения, из них у 49 (85,9 %) больных — артериальные/венозные тромбозы, ОНМК и ОИМ (тромбозы+), у 11 (19,3 %) — кровотечения (геморрагии+). Тромботические осложнения в JAK2+ были у 50/182 (27,4 %) больных, ТН — у 8/26 (30,7 %) пациентов, CALR1+ — у 2/11 (18,2 %). При CALR2+ и MPL+ тромбозов не отмечено ($p < 0,001$). Выявлено наличие статистически значимых различий по уровню тромбоцитов между пациентами групп «тромбозы+» и «геморрагии+» ($p = 0,003$), по уровню гемоглобина и лейкоцитов таковых отмечено не было ($p = 0,75$ и $p = 0,47$). Пациентов старше 60 лет было более половины в группах пациентов БО (51 %) и «тромбозы+» (59 %), а в группе «геморрагии+» — значительно меньше (36 %, $p < 0,001$). По наличию сердечно-сосудистых факторов риска в анамнезе (БО — 24 %, «тромбозы+» — 69 % и «геморрагии+» — 36 %) подгруппы также значимо отличались ($p < 0,001$). Различий по гипертромбоцитозу (более $1000 \times 10^9/\text{л}$) и лейкоцитозу (более $11 \times 10^9/\text{л}$) не получено ($p = 0,85$ и $p = 0,72$ соответственно). При анализе ОВ не выявлено статистически значимых различий между подгруппами с осложнениями и без них ($p = 0,21$) и группами по шкале ВОЗ-ЭТ (IPSET-thrombosis) ($p = 0,068$).

Заключение. Лейкоцитоз и гипертромбоцитоз не являются тромбогенными факторами. Мутация JAK2V617F ассоциирована с увеличением риска и частоты тромбозов, мутации CALR (вне зависимости от типа) не увеличивают риск и частоту тромбозов, но увеличивают частоту кровотечений.

Ключевые слова: эссенциальная тромбоцитемия, мутация гена янускиназы (JAK2), мутация в гене кальретикулина, ген, кодирующий рецептор к тромбопоэтину, тройной-негативный статус

DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-2-30-38

Thrombotic and bleeding risk factors in essential thrombocythemia

A. Zhernyakova, I. Martynkevich, V. Shuvaev, L. Polushkina, M. Fominykh, V. Udal'eva,
I. Zotova, D. Shichbabaeva, S. Voloshin, S. Bessmeltsev, A. Chechetkin, K. Abdulkadyrov

Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology under the Federal Medico-Biological Agency,
16 2-ya Sovetskaya Str., Saint Petersburg 191024, Russia

Background. Thrombosis and hemorrhage are the main category of complications, that affects the overall survival (OS), quality of life and therapy option choice in essential thrombocythemia (ET). Molecular marker presence (JAK2V617F (JAK2+), MPL (MPL+), CALR (CALR1+-type 1, CALR2+-type 2) or its absence (triple-negative status (TN)) in ET supposed to impact on the clinical course, thrombosis rate and ET prognosis.

The aim of this study was to investigate interactions between the presence of molecular marker, thrombosis/bleeding rates and the OS in ET.

Methods. Outpatient's charts of 240 ET patients, who had been diagnosed with ET at our institution according to WHO 2008 criteria. The following data were assessed: complete blood count, bone marrow biopsy results, bone marrow cytogenetic, the restriction fragment length

polymorphism (RFLP) results used for *JAK2V617F* detection, in case of *JAK2V617F*-negative status the PCR-RFLP results (*MPL* detection) and the direct sequencing results (*CALR* detection). Different thrombotic/bleeding complications rates were analyzed. The OS in ET patients was compared according to complications and IPSET-thrombosis groups.

Results. Among 240 pts 183 (76.3 %) hadn't any thrombotic complication or bleeding event (no complications/NC), 57/240 (23.7 %) had complications: 49/57 (85.9 %) reported arterial or/and venous thrombosis, stroke or heart failure (thrombosis+) and 11/57 (19.3 %) had bleeding events (hemorrhage+). Thrombotic complications in *JAK2*+ had 27.4 % (50/182) pts, in TN – 30.7 % (8/26) pts, in *CALR1*+ – 18.2 % (2/11) pts and no cases of thrombosis were detected in *CALR2*+ and *MPL*+ subgroups ($p < 0,001$). There were significant statistical differences in median platelet count as follows: $742 \times 10^9/L$ (thrombosis+) and $937 \times 10^9/L$ (hemorrhage+) ($p = 0.003$). No significant statistical differences in median hemoglobin and leukocyte count ($p = 0.75$ and $p = 0.47$) were detected. There were more than a half pts older than 60 years in groups NC (51 %) and thrombosis+ (59 %) and in group hemorrhage+ only 36 % ($p < 0,001$). Cardiovascular risk factors were reported in 24 % pts (NC), 69 % pts (thrombosis+) and 36 % pts (hemorrhage+) ($p < 0,001$). There were no significant statistical differences in follows risk factors as platelets count $> 1000 \times 10^9/L$ and leukocytosis $> 11 \times 10^9/L$ ($p = 0.85$ and $p = 0.72$). No significant differences in OS among groups NC, thrombosis+ and hemorrhage+ ($p = 0.21$) and IPSET-thrombosis groups ($p = 0,068$) were found.

Conclusion. Along with common thrombotic risk factors (age > 60 and cardiovascular risk factors) mutational status may help to identify ET course. Leukocytosis $> 10 \times 10^9/L$ and thrombocytosis $> 1000 \times 10^9/L$ cannot be assessed as independent thrombosis risk factors in ET. The *JAK2V617F* mutation was associated with increased risk of thrombotic complications in ET. *CALR* mutations were associated with lower thrombosis risk, comparing to *JAK2*+ status despite the fact of *CALR*+ patients had higher platelets level.

Keywords: essential thrombocythemia, Janus kinase gene mutation (*JAK2V617F*), calreticulin gene mutation, myeloproliferative leukemia virus oncogene, triple-negative status

Введение

Эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) — хроническое клональное миелопролиферативное новообразование с неконтролируемой пролиферацией мегакариоцитов, характеризующееся повышенным числом их крупных и гигантских форм в костном мозге, тромбоцитозом в периферической крови (более $450 \times 10^9/L$) и клинически — эпизодами тромбозов и / или кровоточениями [1].

Как и все заболевания подгруппы классических Ph-негативных миелопролиферативных новообразований (МПН), которые включают наряду с ЭТ истинную полицитемию (ИП) и первичный миелофиброз (ПМФ), ЭТ развивается в результате злокачественной трансформации полипотентной клетки — предшественницы гемопоэза и сопровождается гиперактивацией клеточного сигнального JAK-STAT-пути (*JAK2* — ген янускиназы), что приводит к последующей неконтролируемой пролиферации клона морфологически и функционально измененных мегакариоцитов [2–4]. ЭТ рассматривают как прогностически наиболее благоприятное заболевание группы Ph-негативных МПН в связи с длительным отсутствием симптомов заболевания и сохранением общей продолжительности жизни пациентов на уровне, сравнимом с общепопуляционным [5, 6].

При ЭТ основной категорией нежелательных явлений, снижающих качество и продолжительность жизни пациентов, является развитие тромботических и геморрагических осложнений. Ведущими факторами, увеличивающими риск возникновения тромбозов у данной категории пациентов, длительное время признавались возраст старше 60 лет и наличие предшествующих тромбозов в анамнезе [2, 5, 7, 8].

С целью стратификации рисков тромботических осложнений при ЭТ в 2010 г. Британский комитет

стандартов в гематологии (British Committee for Standards in Haematology, BCSH) разработал систему оценки рисков тромбозов, включающую также в качестве одного из факторов гипертромбоцитоз (более $1500 \times 10^9/L$) [7, 9]. Данная система не получила широкого применения в клинической практике, а вопрос о возможном влиянии гипертромбоцитоза на риск развития тромбозов при ЭТ остается дискуссионным.

Открытие и исследование роли соматической точечной мутации *JAK2V617F* в патогенезе ЭТ [10, 11], появление убедительных данных об увеличении риска и частоты тромботических осложнений у *JAK2V617F*-положительных пациентов [12] позволили экспертам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2012 г. модифицировать существовавшую шкалу оценки риска развития тромбозов при ЭТ — IPSET (International Prognostic Score Score for ET), разработанную в 2011 г. Данная шкала включала также в качестве независимого фактора риска тромбозов лейкоцитоз более $11 \times 10^9/L$ [7, 13]. В новый модифицированный вариант шкалы IPSET — WHO-ET IPSET-thrombosis [7, 14] впервые включили носительство мутации *JAK2V617F* в качестве независимого тромбогенного фактора (табл. 1).

Шкала IPSET-thrombosis в настоящее время является универсальным инструментом для оценки рисков тромботических осложнений у пациентов с ЭТ и широко используется в практической деятельности при определении тактики терапии пациентов.

На современном этапе известны уже 3 соматические драйверные мутации при ЭТ: *JAK2V617F*, *MPL* (ген, кодирующий рецептор к тромбопоэтину) и *CALR* (кальретикулин) генов, участвующих в активации JAK-STAT-пути [15–18]. Кроме того, около 10 % пациентов с ЭТ относятся к категории пациентов с ТН-статусом, у которых не определяются мутации

Таблица 1. Международная прогностическая шкала риска развития тромбозов ВОЗ-ЭТ (IPSET-thrombosis) [14]

Table 1. International thrombosis prognostic risk scale WHO-ET

Критерии Criteria	Балл по шкале* Score on the scale*
Возраст старше 60 лет Age over 60 years	1
Сердечно-сосудистые факторы риска (сахарный диабет, курение, артериальная гипертензия) Cardiovascular risk factors (diabetes mellitus, smoking, hypertension)	1
Тромбозы в анамнезе History of thrombosis	2
JAK2V617F	2

* Риски: низкий — 0–1 балл, промежуточный — 2 балла, высокий — 3 и более баллов.

* Risks: low — 0–1 points, intermediate — 2 points, high — 3 points or more.

ни в одном из 3 генов. Однако при ЭТ достоверно установлен только тромбогенный потенциал мутации *JAK2V617F*, тогда как однозначного представления о влиянии других патогенетических мутаций или ТН-статуса на возникновение тромбозов не сформировано [19–21]. В настоящее время представляется актуальным вопросом целесообразность включения других драйверных мутаций в прогностическую шкалу рисков тромботических осложнений при ЭТ.

Целью нашего исследования является оценка возможного влияния наличия различных генетических нарушений и клинико-лабораторных параметров на развитие тромбгеморрагических осложнений при ЭТ и прогноз течения заболевания.

Пациенты и методы

Проанализированы данные, полученные на этапе диагностики и последующего динамического наблюдения за 240 пациентами с ЭТ. Медиана наблюдения составила 37,2 мес (период наблюдения 3–192 мес). Включение больных в исследование проводилось в соответствии с диагностическими критериям ВОЗ 2008 г. (WHO 2008) [22–24].

На этапе диагностики выполнялись следующие исследования: клинический анализ крови с визуальным подсчетом тромбоцитов, цитогенетическое и гистологическое исследования костного мозга с оценкой наличия и степени выраженности фиброза согласно шкале Европейского консенсуса патоморфологов по оценке клеточности и фиброза костного мозга [25]. У всех пациентов проводили определение *JAK2V617F*-статуса методом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). При отрицательном результате исследовали мутации в 515-м кодоне гена *MPL* с помощью полимеразной цепной реакции с последующим анализом ПДРФ (ПЦР-ПДРФ) и мутации в 9-м экзоне гена *CALR* методом прямого секвенирования.

При верификации диагноза и в течение периода динамического наблюдения проводилась регистрация тромботических и геморрагических осложнений:

артериальных и венозных тромбозов, острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), острого инфаркта миокарда (ОИМ), эпизодов кровотечений различной локализации. Стратификация рисков развития тромбозов осуществлялась согласно шкале IPSET-thrombosis. В проводимом анализе учитывались дополнительные факторы, которые могут влиять на риск развития тромботических осложнений при ЭТ: гипертромбоцитоз (более $1000 \times 10^9/\text{л}$) и лейкоцитоз (более $11 \times 10^9/\text{л}$). Дата верификации диагноза ЭТ служила точкой отсчета при проведении анализа общей выживаемости (ОВ) пациентов.

Обработка данных и статистический анализ проводились с использованием программ Microsoft Excel 2013 и StatSoft Statistica 10. Статистическая значимость различий оценивалась с помощью одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) Краскела–Уоллиса, критерия χ^2 -квадрат с поправкой Йетса, U-теста Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при уровне $p < 0,05$. ОВ оценивалась посредством построения кривых Каплана–Майера, разницу определяли с помощью логарифмического рангового теста.

Результаты

В группе из 240 больных ЭТ были 62 (25,8 %) мужчины и 178 женщин (74,2 %) от 20 лет до 91 года (медиана возраста — 58,7 года). Мутационный статус обследованных пациентов имел следующее распределение: у 182 (75,9 %) выявлена *JAK2V617F* (*JAK2+*); у 30 (12,5 %) — *CALR*-мутации (*CALR+*) 1-го и 2-го типов: у 13 (43,3 %) из них *CALR1+* и у 17 (56,7 %) — *CALR2+*. Также у 2 (0,8 %) пациентов обнаружены *MPL*-мутации (*MPL+*), у 26 (10,8 %) — ТН-статус.

По результатам цитогенетического анализа образцов костного мозга, проведенного у 47 (19,6 %) обследованных больных, лишь у 1 (2,1 %) *JAK2+*-пациентки были выявлены комплексные изменения кариотипа (остальные имели нормальный кариотип). Следует отметить, что на этапе первичной диагностики у данной

пациентки кариотип также был нормальным, а клональная хромосомная эволюция наблюдалась при трансформации заболевания в фазу бластного криза (БК).

При гистологическом исследовании костного мозга у 76 (31,7 %) пациентов отмечена гиперклеточность и наличие атипичных мегакариоцитов и у 9 (11,8 %) из них — признаки, соответствующие I степени фиброза по шкале Европейского консенсуса патоморфологов [25].

Из всех обследованных пациентов тромбогеморрагические осложнения не были отмечены у 183 (76,3 %), тогда как у 57 (23,7 %) они присутствовали: в том числе эпизоды артериальных и/или венозных тромбозов, ОНМК и/или ОИМ (тромбозы+) — в 49 (85,9 %) случаях; геморрагические проявления (геморрагии+) — в 11 (19,3 %). Кроме того, отмечены тромбозы в сочетании с эпизодами кровотечений у 3 пациентов из 57. В группе «тромбозы+» у 21 (42,9 %) из 49 пациентов были выявлены артериальные тромбозы, при этом у каждого пациента данной подгруппы в сочетании с иным видом осложнения — венозным тромбозом, ОИМ или ОНМК, а у 3 — с эпизодами кровоточивости. Из 49 пациентов этой группы у 12 (24,5 %) отмечались венозные тромбозы, у 27 (55,1 %) — ОИМ и/или ОНМК, у последних в 16 (59,3 %) случаях ОИМ/ОНМК сочетался с периферическими тромбозами. Абсолютное большинство пациентов отмечали появление указанных осложнений до верификации диагноза ЭТ, за исключением 2 *JAK2*+ пациентов: у 1 был повторный ОИМ после верификации ЭТ, у 2-го — ОНМК (в анамнезе имелся венозный тромбоз).

При сравнении частоты тромбогеморрагических осложнений у пациентов с различным мутационным статусом было отмечено, что артериальные тромбозы встречались у 9,3 % *JAK2*+ пациентов, венозные — у 5,5 %, ОНМК + ОИМ — у 12,6 % и геморрагические осложнения — у 3,8 %. У *CALR*+ пациентов: артериальные тромбозы зарегистрированы у 7,6 % больных, венозные же отмечены не были, ОНМК+ОИМ встречался у 7,7 % и геморрагические осложнения — у 21,3 %. В подгруппе пациентов с ТН-статусом артериальные тромбозы выявлены в 11,5 % случаев, венозные — в 7,7 %, ОНМК+ОИМ — в 11,5 % и геморрагические осложнения — в 3,8 %. Распределение пациентов с тромбозами и геморрагиями по мутационному статусу представлены на рис. 1 и 2 соответственно.

При анализе показателей клинического анализа крови, взятого на этапе верификации диагноза пациентов в подгруппах с различными осложнениями (табл. 2), было выявлено наличие статистически значимых различий по количеству тромбоцитов между пациентами подгрупп «тромбозы+» и «геморрагии+»: $742 \times 10^9/\text{л}$ и $937 \times 10^9/\text{л}$ соответственно ($p = 0,003$). Обращает на себя внимание то, что у *CALR*+ пациентов (вне зависимости от типа мутации) зарегистрированы значимо более высокие показатели уровня тромбоцитов на этапе диагностики в сравнении с пациентами *JAK2*+ и с ТН-статусом ($p < 0,001$), по другим показателям клинического анализа крови выявлены различия только по уровню гемоглобина ($p = 0,005$).

На следующем этапе было проанализировано наличие как основных (возраст старше 60 лет, сердечно-

Таблица 2. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с наличием осложнений и без них

Table 2. Clinical and laboratory characteristics of patients with and without complications

Исследуемый показатель Criteria	Без осложнений, $n = 193$ Without complications, $n = 193$	Тромбозы+, $n = 49$ Thrombosis+, $n = 49$	Геморрагии+, $n = 11$ Hemorrhage+, $n = 11$
Медиана возраста (диапазон), лет Median age (range), years	57 (20–91)	62 (23–91)	58 (29–77)
Число пациентов, мужчины/женщины Number of patient, men/women	44/149	14/35	5/6
Гемоглобин, г/л: Hemoglobin, g/L: мужчины/женщины men/women то же в среднем (диапазон) mean (range)	150/137 (113–178)/(88–175)	146/140 (110–180)/109–173)	146/140 (123–159)/(130–152)
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Leukocytes, $\times 10^9/\text{L}$ в среднем (диапазон) mean (range)	10,0 (3,7–25,4)	9,4 (5,0–18,6)	8,6 (5,0–12,0)
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Platelets, $\times 10^9/\text{L}$ в среднем (диапазон) mean (range)	894 (313–2079)	742 (313–1492)	937 (554–2500)

Таблица 3. Наличие факторов риска развития тромбозов у пациентов с осложнениями и без них при эссенциальной тромбоцитемии

Table 3. The presence of thrombosis risk factors in ET patients with and without complications

Исследуемый показатель Criteria	Без осложнений, n = 193 Without complications, n = 193	Тромбозы+, n = 49 Thrombosis+, n = 49	Геморрагии+, n = 11 Hemorrhage+, n = 11
Возраст старше 60 лет, n (%) Age over 60 years, n (%)	93 (51)	29 (59)	4 (36)
Наличие как минимум одного сердечно-сосудистого фактора риска, n (%) Presence of at least one cardiovascular risk factor, n (%)	47 (24)	34 (69)	14 (36)
Лейкоциты $>11 \times 10^9/\text{л}$, n (%) Leukocytes $>11 \times 10^9/\text{L}$, n (%)	51 (28)	13 (27)	3 (27)
Тромбоциты $>1000 \times 10^9/\text{л}$, n (%) Platelets $>1000 \times 10^9/\text{L}$, n (%)	47 (26)	7 (14)	2 (18)

сосудистые факторы риска в анамнезе), так и дополнительных (гипертромбоцитоз и лейкоцитоз) факторов риска развития тромботических осложнений (табл. 3). По этим факторам пациенты старше 60 лет составили более половины (51 и 59 %) в группах без осложнений (БО) и «тромбозы+» соответственно, тогда как в группе «геморрагии+» — лишь 36 % ($p < 0,001$). По наличию сердечно-сосудистых факторов риска в анамнезе (БО — 24 %, тромбозы+ — 69 % и геморрагии+ — 36 %) подгруппы также значимо различались ($p < 0,001$). В анализируемых подгруппах статистически значимых различий по гипертромбоцитозу ($>1000 \times 10^9/\text{л}$) и лейкоцитозу ($>11 \times 10^9/\text{л}$) не получено ($p = 0,85$ и $0,72$ соответственно). По зарегистрированным факторам риска все пациенты были отнесены к соответствующим группам риска тромбозов (табл. 4), включенным в шкалу IPSET-thrombosis. При распределении пациентов анализируемых подгрупп по сумме баллов согласно шкале IPSET-thrombosis отмечены статистически значимые различия: в подгруппе БО распределение пациентов по группам риска в целом равномерное, тогда как в подгруппе «тромбозы+» подавляющее большинство (93,9 %) имело высокий риск развития тромбозов. В подгруппе «геморрагии+» более половины

(54,5 %) пациентов достигли уровня высокого и 36,4 % — промежуточного риска ($p < 0,001$).

При анализе динамики ОБ пациентов различных групп риска развития тромбозов по шкале IPSET-thrombosis (кривые Каплана–Майера, рис. 3) статистически значимые различия между группами также не были выявлены ($p = 0,068$), при этом отмечено следующее:

- при низком риске развития тромбозов прогноз можно охарактеризовать как наиболее благоприятный: обращает на себя внимание отсутствие снижения уровня ОБ в течение всего периода наблюдения — 5- и 10-летняя выживаемость в данной группе составила 98 %;
- группу промежуточного риска также следует рассматривать в целом как прогностически благоприятную: 5-летняя ОБ составила 97 %, а 10-летняя — 91 %;
- группа высокого риска возникновения тромбозов характеризуется наименее благоприятным прогнозом: 5-летняя ОБ — 90 %, а 10-летняя — только 61 %;
- медиана ОБ не была достигнута ни в одной из подгрупп.

Таблица 4. Распределение пациентов с наличием и без осложнений согласно группам риска шкалы IPSET-thrombosis

Table 4. Distribution of patients with and without complications according to IPSET-thrombosis scale risk groups

Группа шкалы IPSET-thrombosis IPSET-thrombosis scale group	Без осложнений, n = 193 Without complications, n = 193	Тромбозы+, n = 49 Thrombosis+, n = 49	Геморрагии+, n = 11 Hemorrhage+, n = 11
Группы риска, n (%): Risk groups, n (%):			
низкого low	44/193 (22,8)	0/49 (0)	1/11 (9,1)
промежуточного intermediate	66/193 (34,2)	3/49 (6,1)	4/11 (36,4)
высокого high	83/193 (43,0)	46/49 (93,9)	6/11 (54,5)

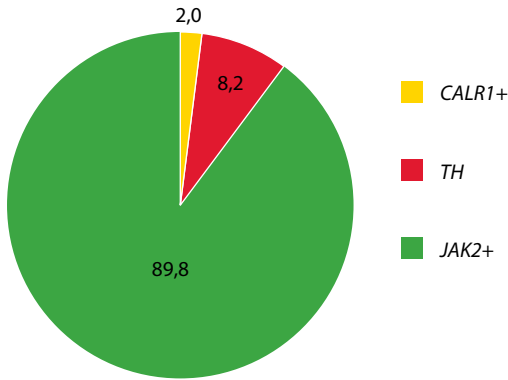


Рис. 1. Мутационный статус пациентов с тромбозами ($n = 49$), %. CALR1+ – 1-й тип мутации гена кальретикулина, JAK2+ – мутация гена янускиназы, TH – тройной-негативный статус
Fig. 1. Mutational status in patients with thrombosis, $n = 49$, %.
 CALR1+ – calreticuline type 1, JAK2+ – januskinase 2, TH – triple-negative status

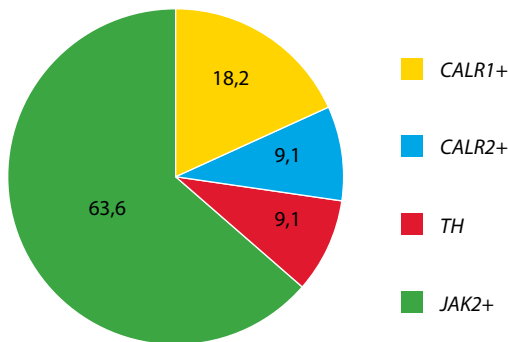


Рис. 2. Мутационный статус у пациентов с геморрагическими осложнениями ($n = 11$), %. CALR1+ и CALR2+ – CALR-мутации 1-го и 2-го типов кальретикулина, JAK2+ – мутация гена янускиназы, TH – тройной-негативный статус
Fig. 2. Mutational status in patients with hemorrhagic complications ($n = 11$), %.
 CALR1+ и CALR2+ – calreticuline mutation type 1 and type 2, JAK2+ – januskinase 2, TH – triple-negative status

При сравнении ОВ в группах БО, «тромбозы+» и «геморрагии+» (кривые Каплана–Майера, рис. 4) статистически значимых различий не выявлено ($p = 0,21$):

- 5-летняя ОВ составила соответственно в подгруппах БО и «тромбозы+» – 97 %, в «геморрагии+» – 90 %;
- 10-летняя ОВ сохранилась на прежнем уровне в подгруппе «геморрагии+» (90 %) и снизилась до 88 и 86 % в подгруппах БО и «тромбозы+» соответственно;
- медиана ОВ была достигнута только в подгруппе «тромбозы+» и составила 12 лет.

Возможными неблагоприятными исходами ЭТ являются трансформация во вторичный миелофиброз (МФ), переход в фазу БК или летальный исход (табл. 5).

Среди пациентов исследуемых подгрупп статистически достоверных различий по трансформации ЭТ в МФ или БК не получено ($p = 0,07$ и $p = 0,79$ соответственно). Однако у пациентов подгруппы «геморра-

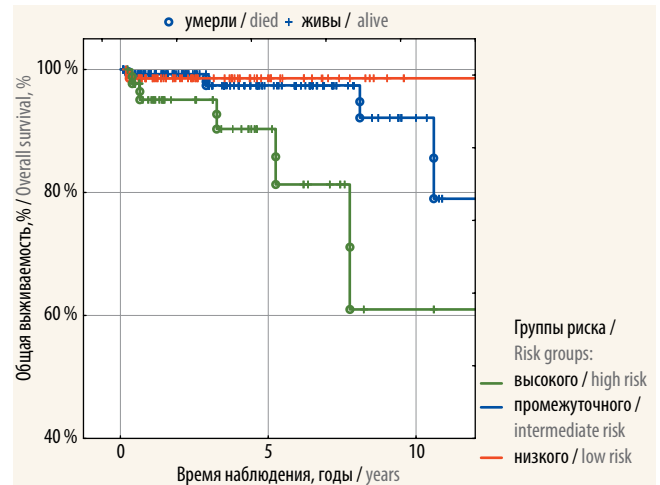


Рис. 3. Общая выживаемость пациентов различных групп риска по шкале IPSET-thrombosis, $p = 0,068$
Fig. 3. OS in pts in different IPSET-thrombosis groups, $p = 0,068$

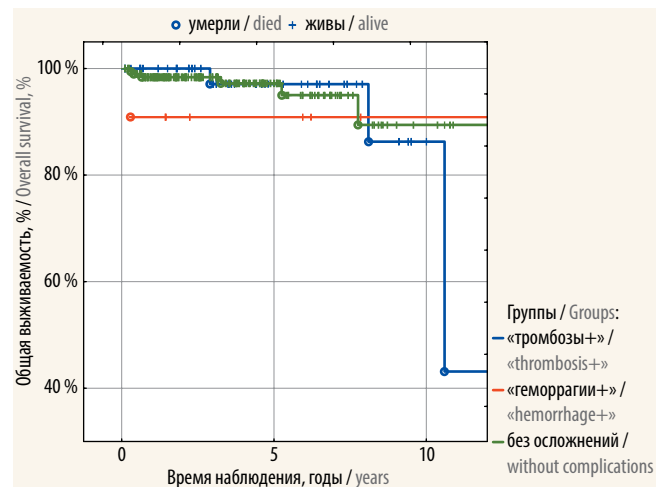


Рис. 4. Общая выживаемость пациентов с наличием или без осложнений, $p = 0,21$
Fig. 4. Overall survival in pts with or without complications, $p = 0,21$

гии+» отмечен только один случай трансформации ЭТ в МФ и ни одного перехода заболевания в фазу БК, тогда как в подгруппах «тромбозы+» и БО такие исходы регистрировались чаще.

Обсуждение

ЭТ характеризуется неконтролируемым повышением пролиферации клональных клеток-предшественников миелоидного ряда, сопровождающимся изолированным тромбоцитозом/гипертромбоцитозом и/или лейкоцитозом в периферической крови. Основными жизнеугрожающими осложнениями заболевания являются тромбозы различной локализации. Среди общепризнанных тромбогенных факторов при ЭТ – возраст старше 60 лет, наличие в анамнезе тромбозов и сердечно-сосудистых факторов риска (артериальная гипертензия, сахарный диабет, курение и гиперлипидемия) [5, 26, 27].

Таблица 5. Неблагоприятные исходы у пациентов с тромбгеморрагическими осложнениями и без осложнений

Table 5. Adverse outcomes in patients with and without complications

Исследуемый показатель Criteria	Без осложнений, <i>n</i> = 193 Without complications, <i>n</i> = 193	Тромбозы+, <i>n</i> = 49 Thrombosis+, <i>n</i> = 49	Геморрагии+, <i>n</i> = 11 Hemorrhage+, <i>n</i> = 11
Трансформация в миелофиброз, <i>n</i> (%) MF transformation, <i>n</i> (%)	4/193 (2,1)	4/49 (8,2)	1/11 (9,1)
Трансформация в бластный криз, <i>n</i> (%) BC transformation, <i>n</i> (%)	2/193 (1,0)	1/49 (2,0)	0/0 (0)
Летальный исход, <i>n</i> (%) Death, <i>n</i> (%)	7/193 (3,6)	3/49 (6,1)	1/11 (9,1)

На современном этапе риск развития тромбозов при ЭТ оценивается с помощью универсального инструмента — шкалы IPSET-thrombosis. Однако появление новых данных о молекулярно-генетической природе данной патологии и результаты многоцентровых исследований по изучению особенностей течения ЭТ у пациентов с различным молекулярно-генетическим статусом актуализируют вопрос о целесообразности включения носительства той или иной патогенетической мутации в прогностическую шкалу оценки рисков развития тромбозов при ЭТ. В частности, А. Tefferi и Т. Barbui [28] предлагают стратифицировать пациентов не на 3, а на 4 группы риска тромбозов:

- 1) с очень низким риском (пациенты моложе 60 лет, без тромбозов в анамнезе, *JAK2V617F/MPL*-отрицательные);
- 2) с низким риском (моложе 60 лет, без тромбозов в анамнезе, *JAK2V617F/MPL*-положительные);
- 3) с промежуточным риском (старше 60 лет, с тромбозами в анамнезе, *JAK2V617F/MPL*-отрицательные);
- 4) с высоким риском тромбозов (старше 60 лет или с тромбозами в анамнезе, *JAK2V617F/MPL*-положительные).

В настоящее время не вызывает сомнений доказанный в ходе исследований независимый тромбогенный потенциал мутации *JAK2V617F* [29]. Следует обратить внимание, что перестройки в гене *MPL* также рассматриваются в качестве прогностически неблагоприятного фактора, и это нашло отражение в предложенной А. Tefferi и Т. Barbui градации пациентов по группам риска тромботических осложнений [28].

Однозначного представления о тромбогенном потенциале перестроек гена *CALR* в настоящее время не сформировано. В своем исследовании G. Finazzi и соавт. [30] продемонстрировали отсутствие достоверного влияния мутаций гена *CALR* на расчет рисков развития тромбозов с применением шкалы IPSET-thrombosis, что свидетельствует об отсутствии необходимости рассматривать носительство данной мутации в качестве одного из возможных факторов для включения в эту шкалу.

В проведенном нами исследовании было отмечено, что частота и количество зарегистрированных тромбозов при носительстве *CALR*-мутаций в 2 раза ниже в сравнении с подгруппой *JAK2+*-пациентов. В своих работах J. Nangalia и соавт. [16], E. Rumi и соавт. [21] также отмечали такую характерную взаимосвязь — достоверное потенцирование тромбозов при *JAK2+*-статусе и нарастание частоты геморрагических осложнений при носительстве *CALR*-мутаций. При этом достоверных различий в развитии тромбозов между носителями 1-го и 2-го типа мутаций не выявлено, несмотря на в целом менее благоприятное течение заболевания при носительстве 2-го типа *CALR*-мутации [20, 31, 32].

Наличие мутации *JAK2V617F* является независимым фактором, увеличивающим риск возникновения тромботических осложнений. По результатам проведенного исследования у пациентов-носителей *JAK2V617F*-мутации достоверно чаще регистрировались тромботические осложнения в сравнении с *CALR+*-пациентами (21,9 против 11,0 % — 1-й тип и 6,7 % — 2-й тип).

Значимых различий между пациентами *MPL+* и с ТН-статусом при оценке рисков и частоты развития тромбозов и возможном влиянии данных молекулярно-генетических фенотипов на развитие тромбозов не получено. Увеличение или снижение рисков и частоты развития тромбозов у пациентов данных подгрупп исследовано в недостаточной степени и требует дальнейшего изучения.

В качестве независимого фактора, увеличивающего риск развития тромбозов при ЭТ, в ряде исследований (F. Passamonti и соавт. [13], P.J. Campbell и соавт. [33], A. Carrobbio и соавт. [30, 34], G. Finazzi и соавт. [29]) рассматривается и наличие лейкоцитоза (более $11 \times 10^9/\text{л}$). В проведенном нами исследовании достоверной взаимосвязи между наличием лейкоцитоза и нарастанием риска и частоты тромбоза не отмечено ($p > 0,05$).

Гипертромбоцитоз (более $1000 \times 10^9/\text{л}$) также приводится в ряде публикаций в качестве фактора, не влияющего на возникновение тромбозов [7, 13, 33], тогда как в других [26, 28] его рассматривают вне зависимости от мутационного статуса как фактор, способству-

ющий увеличению частоты спонтанных кровотечений за счет повышенной сорбции плазменного фактора Виллебранда на поверхности тромбоцитов с развитием одноименного синдрома при ЭТ. У пациентов-носителей мутаций гена *CALR*, достоверно чаще ассоциированной с гипертромбоцитозом, по данным E. Rumi и соавт. [21], частота развития геморрагических осложнений возрастает. По результатам проведенного исследования отмечено, что при носительстве *CALR*-мутаций частота зарегистрированных геморрагий составила 23,9 %, тогда как при мутации *JAK2V617F* только 3,6 %, при ТН-статусе геморрагии не зарегистрированы. Кроме того, обращает на себя внимание наличие более высокого уровня тромбоцитов у пациентов с геморрагическими осложнениями по сравнению с показателями пациентов с тромбозами. Таким образом, достоверного влияния лейкоцитоза и тромбоцитоза на риск развития тромбозов при ЭТ, по результатам проведенного анализа, не зарегистрировано.

Заключение

Возникновение тромботических осложнений является критерием неблагоприятного развития

ЭТ и может рассматриваться в качестве фактора негативного прогноза заболевания. Наряду с ведущими факторами, увеличивающими риск развития тромбозов (возраст старше 60 лет и сердечно-сосудистые факторы риска в анамнезе) мутационный статус может оказывать влияние на особенности течения ЭТ. Так, носительство мутации *JAK2V617F* ассоциировано с достоверным возрастанием риска и частоты развития тромбозов. Наличие мутаций в гене *CALR*, несмотря на связанный с ее носительством более высокий уровень тромбоцитов при верификации ЭТ, не характеризуется увеличением риска и частоты развития тромбозов, но ассоциировано с увеличением частоты геморрагических осложнений за счет развития синдрома Виллебранда.

В большинстве случаев изучение влияния мутаций в гене *MPL* осложняется небольшой частотой встречаемости мутации при ЭТ. Пациенты с ТН-статусом — наименее изученная подгруппа.

Лейкоцитоз и гипертромбоцитоз не могут рассматриваться в качестве независимых тромбогенных факторов риска.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования: исследование выполнено в рамках НИР «Хронические миелопролиферативные новообразования-15».

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Меликян А.Л., Туркина А.Г., Абдулкадыров К.М. и др. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз). II Конгресс гематологов (апрель 2014 г.). М., 2014. [Melikyan A.L., Turkina A.G., Abdulkadyrov K.M. et al. Clinical recommendations for diagnosis and therapy of Ph-negative myeloproliferative diseases (polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis). II Congress of Hematology (April 2014). Moscow, 2014. (In Russ.)]. <http://blood.ru/documents/clinical%20guidelines/28.%20klinicheskie-rekomendacii-2014-xmpz-ph-neg.pdf>
2. Гематология: Национальное руководство / Под ред. О.А. Рукавицына. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. [Hematology: National Guidelines. Ed.: Rukavitsin O.A. Moscow: GEOTAR-Media, 2015. (In Russ.)].
3. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R. et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391–405. DOI: 10.1182/blood-2016-03-643544. PMID: 27069254.
4. Абдулкадыров К.М., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. Современные подходы к диагностике и лечению эссенциальной тромбоцитемии: обзор литературы и собственные данные. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика 2015;8(3):235–47. [Abdulkadyrov K.M., Shuvaev V.A., Martynkevich I.S. Modern Approaches to essential thrombocythemia diagnosis and treatment: literature review and own experience. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical oncohematology* 2015;8(3):235–47 (In Russ.)].
5. Абдулкадыров К.М., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. Миелолипролиферативные новообразования. М.: Литтерра, 2016. [Abdulkadyrov K.M., Shuvaev V.A., Martynkevich I.S. Myeloproliferative neoplasms. Moscow: Litterra, 2016 (In Russ.)].
6. Petrides P. CMPE 2014. Aktuelle empfehlungen zu diagnostik und therapie chronisch myeloproliferativer erkrankungen 4. Auflage. München, 2014. 48 S.
7. Dambrauskiene R., Gerbutavicius R., Juozaityte E., Gerbutaviciene R. Thrombotic risk assessment in 185 WHO-defined essential thrombocythemia patients: single centre experience. *Contemp Oncol* 2015;19(5):396–9. DOI: 10.5114/wo.2015.54083. PMID: 26793025.
8. Tefferi A., Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2015 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2015;90(2):162–73. DOI: 10.1002/ajh.23895. PMID: 25611051.
9. Rumi E., Gazzola M. How I treat essential thrombocythemia. *Blood* 2016;128(20):2403–14. DOI: 10.1182/blood-2016-05-643346. PMID: 27561316.
10. Wolanskyj A., Lasho T.L., Schwager S.M. et al. JAK2 mutation in essential

- thrombocytopenia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005;131(2):208–13. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05764.x. PMID: 16197451.
11. Baxter E., Scott L.M., Campbell P.J. et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365(9464):1054–61. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)71142-9/ PMID: 15781101.
12. Cheung B., Radia D., Pantelidis P. et al. The presence of the JAK2V617F mutation is associated with higher hemoglobin and increased risk of thrombosis in essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 2006;132(2):244–50. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05858.x. PMID: 16398659.
13. Passamonti F., Thiele J., Girodon F. et al. A prognostic model to predict survival in 867 World Health Organization-defined essential thrombocythemia at diagnosis: a study by the International Working Group on Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2012;120(6):1197–201. DOI: 10.1182/blood-2012-01-403279. PMID: 22740446.
14. Barbui T., Finazzi G., Carobbio A. et al. Development and Validation of an International Prognostic Score of Thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood* 2012;120(26):5128–33. DOI: 10.1182/blood-2012-07-444067. PMID: 23033268.
15. Andrikovics H., Krahling T., Balassa K. et al. Distinct clinical characteristics of myeloproliferative neoplasms with calreticulin mutations. *Haematologica* 2014;99(7):1184–90. DOI: 10.3324/haematol.2014.107482. PMID: 24895336.
16. Nangalia J., Massie C.E., Baxter E.J. et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med* 2013;369(25):2391–405. DOI: 10.1056/nejmoa1312542. PMID: 24325359.
17. Pardanani A.D., Levine R.L., Lasho T. et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 2006;108(10):3472–6. DOI: 10.1182/blood-2006-04-018879. PMID: 16868251.
18. Al Assaf C., Van Obbergh F., Billiet J. et al. Analysis of phenotype and outcome in essential thrombocythemia with CALR or JAK2 mutations. *Haematologica* 2015;100(7):893–7. DOI: 10.3324/haematol.2014.118299. PMID: 25934766.
19. Asp J., Andréasson B., Hansson U. et al. Mutational status of essential thrombocythemia and primary myelofibrosis defines clinical outcomes. *Haematologica* 2016;101(4):e129–e132. DOI: 10.3324/haematol.2015.138958. PMID: 26768689.
20. Rotunno G., Mannarelli C., Guglielmelli P. et al. Impact of calreticulin mutations on clinical and hematological phenotype and outcomes in essential thrombocythemia. *Blood* 2014;123(10):1552–5. DOI: 10.1182/blood-2013-11-538983. PMID: 24371211.
21. Rumi E., Pietra D., Ferretti V. et al. JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes. *Blood* 2014;123(10):1544–51. DOI: 10.1182/blood-2013-11-539098. PMID: 24366362.
22. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Eds.: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2008. ISBN: 978-92-832-2431-0.
23. Tefferi A., Vardiman J.W. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008;22(1):14–22. DOI: 10.1038/sj.leu.2404955. PMID: 17882280.
24. Tefferi A., Thiele J., Orazi A. et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organisation diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *A. Leukemia* 2007;22(1):14–22. DOI: 10.1182/blood-2007-04-083501. PMID: 17488875.
25. Thiele J., Kvasnicka H.M., Facchetti F. et al. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 2005;90(8):1128–32. PMID: 16079113.
26. Carobbio A., Thiele J., Passamonti F. et al. Risk factors for arterial and venous thrombosis in who-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood* 2011;117(22):5857–9. DOI: 10.1182/blood-2011-02-339002. PMID: 21490340.
27. Passamonti F., Rumi E., Arcaini L. et al. Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica* 2008;93(11):1645–51. DOI: 10.3324/haematol.13346. PMID: 18790799.
28. Tefferi A., Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2017;92(1):94–108. DOI: 10.1002/ajh.24607. PMID: 27991718.
29. Finazzi G., Rambaldi A., Guerini V. et al. Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2V617F status. *Haematologica* 2007;92(1):135–6. PMID: 17229651.
30. Finazzi G., Carobbio A., Guglielmelli P. et al. Calreticulin mutation does not modify the IPSET score for predicting the risk of thrombosis among 1150 patients with essential thrombocythemia. *Blood* 2014;124(16):2611–2. DOI: 10.1182/blood-2014-08-596676. PMID: 25323688.
31. Tefferi A., Wasse E.A., Lasho T.L. et al. Calreticulin mutations and long-term survival in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2014;28(12):2300–3. DOI: 10.1038/leu.2014.148. PMID: 24791854.
32. Klampfl T., Gisslinger H., Harutyunyan A.S. et al. Somatic Mutations of Calreticulin in Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med* 2013;369(25):2391–405. DOI: 10.1056/nejmoa1311347. PMID: 24325356.
33. Campbell P.J., MacLean C., Beer P.A. et al. Correlation of blood counts with vascular complications in essential thrombocythemia: analysis of the prospective PT1 cohort. *Blood* 2012;120(7):1409–11. DOI: 10.1182/blood-2012-04-424911. PMID: 22709688.
34. Carobbio A., Finazzi G., Guerini V. et al. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood* 2007;109(6):2310–3. DOI: 10.1182/blood-2006-09-046342. PMID: 17110452.
35. Carobbio A., Antonioli E., Guglielmelli P. et al. Leukocytosis and risk stratification assessment in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 2008;26(16):2732–6. DOI: 10.1200/jco.2007.15.3569. PMID: 18443353.
36. Bertozzi I., Peroni E., Coltro G. et al. Thrombotic risk correlates with mutational status in true-essential thrombocythemia. *Eur J Clin Invest* 2016;46(8):683–9. DOI: 10.1111/eci.12647. PMID: 27271054.