

Иммунофенотипирование клеток крови и костного мозга как способ поиска факторов риска дифференцировочного синдрома при остром промиелоцитарном лейкозе

А.А. Семенова¹, И.В. Гальцева¹, В.В. Троицкая¹, Н.М. Капранов¹, Ю.О. Давыдова¹, К.А. Никифорова¹, А.Г. Лосева¹, А.А. Ермолаев², В.А. Суримова¹, С.М. Куликов¹, Е.Н. Паровичникова¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4;

²ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Контакты: Арина Аркадьевна Семенова arinasemenovaa69@gmail.com

Введение. Дифференцировочный синдром (ДС) – потенциально летальное осложнение терапии острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ) с частотой встречаемости до 48 %. На сегодняшний день не обнаружено достоверных факторов риска развития ДС за исключением лейкоцитоза в дебюте ОПЛ.

Цель исследования – определить факторы риска, ассоциированные с развитием ДС, у пациентов с ОПЛ на фоне индукционной терапии триоксидом мышьяка (АТО) и третиноином (АТРА).

Материалы и методы. В исследование включены 39 пациентов с ОПЛ, 29 (74,4 %) из них отнесены в группу низкого риска по ELN (European Leukemia Net), 10 (25,6 %) – в группу высокого риска. В дебюте заболевания выполняли цитологическое и молекулярное (химерный транскрипт *PML::RARA*, мутация *FLT3-ITD*) исследования костного мозга, определяли экспрессию бластными клетками крови и костного мозга 28 дифференцировочных антигенов (маркеры ранних предшественников, миелоидной и лимфоидной дифференцировки, молекулы клеточной адгезии, хемокиновые рецепторы, интегрины, селектин), оценивали индекс массы тела (ИМТ), динамику количества лейкоцитов в процессе курса индукции. Всем пациентам проводили терапию АТРА и АТО. Пациентам группы высокого риска в дебюте выполняли 1–3 введения идарубицина (12 мг/м²) и дексаметазона (8–10 мг/м² 2 раза в день) для профилактики ДС до редукции лейкоцитоза. В случаях ДС назначали дексаметазон в дозе 10 мг/м² 2 раза в день, при тяжелом течении ДС курс индукции прерывали.

Результаты. У 12 (30,8 %) из 39 пациентов диагностирован ДС: у 20 % (2/10) пациентов группы высокого риска и у 34,5 % (10/29) пациентов группы низкого риска. Не выявлена статистически значимая ассоциация лейкоцитоза $\geq 10 \times 10^9/\text{л}$ в дебюте, микрогранулярной морфологии бластных клеток, *bcr3*-варианта *PML::RARA*, мутации *FLT3-ITD* с развитием ДС. При многофакторном анализе вероятность развития ДС была ассоциирована с ИМТ ≥ 30 кг/м² и средней интенсивностью флуоресценции антигена CD38 бластными клетками независимо от группы риска. По результатам ROC-анализа установлено пороговое значение средней интенсивности флуоресценции CD38 25 000 у.е., в случае превышения которого с высокой вероятностью развивается ДС.

Заключение. Высокая частота развития ДС среди пациентов группы низкого риска, вероятно, обусловлена отсутствием профилактического назначения глюкокортикостероидных гормонов при развитии лейкоцитоза на фоне терапии АТРА и АТО. Как статистически значимые факторы риска развития ДС были определены ИМТ ≥ 30 кг/м² и средняя интенсивность флуоресценции CD38 $> 25\,000$ у.е.

Ключевые слова: острый промиелоцитарный лейкоз, дифференцировочный синдром, триоксид мышьяка, CD38

Для цитирования: Семенова А.А., Гальцева И.В., Троицкая В.В. и др. Иммунофенотипирование клеток крови и костного мозга как способ поиска факторов риска дифференцировочного синдрома при остром промиелоцитарном лейкозе. Онкогематология 2024;19(2):56–66. DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-2-56-66>

Immunophenotyping of blood and bone marrow cells as a way to search for differentiation syndrome risk factors in acute promyelocytic leukemia

A.A. Semenova¹, I.V. Galtseva¹, V.V. Troitskaya¹, N.M. Kapranov¹, Yu.O. Davydova¹, K.A. Nikiforova¹, A.G. Loseva¹, A.A. Ermolaev², V.A. Surimova¹, S.M. Kulikov¹, E.N. Parovichnikova¹

¹National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia;
²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Build. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia

Contacts: Arina Arkadevna Semenova arinasemenovaa69@gmail.com

Background. Differentiation syndrome (DS) is a potentially fatal complication of therapy for acute promyelocytic leukemia (APL) with an incidence of up to 48 %. To date, no reliable DS risk factors have been found, with the exception of leukocytosis at the APL onset.

Aim. To determine the risk factors associated with DS in patients with APL during induction therapy with arsenic trioxide (ATO) and tretinoin (ATRA).

Materials and methods. The study included 39 patients with APL, 29 (74.4 %) of them were classified as low-risk according to ELN (European Leukemia Net), 10 (25.6 %) were classified as high-risk. At the disease onset, cytological and molecular (chimeric transcript *PML::RARα*, *FLT3*-ITD mutation) bone marrow studies were performed, the expression of 28 differentiation antigens by blood and bone marrow blast cells was determined (markers of early precursors, myeloid and lymphoid differentiation, cell adhesion molecules, chemokine receptors, integrins, selectin), body mass index (BMI) and the leukocytes number dynamics during induction course were assessed. All patients received ATRA and ATO therapy. Patients from the high-risk group at the onset received 1–3 injections of idarubicin (12 mg/m²) and dexamethasone (8–10 mg/m² 2 times a day) to prevent DS until leukocytosis reduced. In cases of DS, dexamethasone was prescribed at a dose of 10 mg/m² 2 times a day; in cases of severe DS, the induction course was interrupted.

Results. of the 39 patients, 12 (30.8 %) were diagnosed with DS: 20 % of high-risk patients (2/10) and 34.5 % of low-risk patients (10/29). There was no statistically significant association of leukocytosis more than $10 \times 10^9/L$ at onset, microgranular morphology of blast cells, *bcr3*-variant *PML::RARα*, *FLT3*-ITD mutation with DS. In multivariate analysis, the probability of DS was associated with BMI ≥ 30 kg/m² and mean fluorescence intensity of CD38 antigen by blast cells, regardless of risk group. Based on the results of the ROC-analysis, the threshold value of mean CD38 fluorescence intensity was set at 25,000 cu, if exceeded, DS is highly likely to develop.

Conclusion. The high incidence of DS among low-risk patients is probably due to the lack of prophylactic glucocorticosteroids administration for the development of leukocytosis during ATRA and ATO therapy. BMI ≥ 30 kg/m² and mean CD38 fluorescence intensity more than 25,000 cu were identified as statistically significant DS risk factors.

Keywords: acute promyelocytic leukemia, differentiation syndrome, arsenic trioxide, CD38

For citation: Semenova A.A., Galtseva I.V., Troitskaya V.V. et al. Immunophenotyping of blood and bone marrow cells as a way to search for differentiation syndrome risk factors in acute promyelocytic leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2024;19(2):56–66. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-2-56-66>

Введение

Острый промиелоцитарный лейкоз (ОПЛ) — форма острого миелоидного лейкоза, характеризующаяся высокой чувствительностью к воздействию дифференцирующих препаратов и, к сожалению, достаточно высокой долей случаев ранней летальности. Так, у пациентов группы высокого риска (т.е. с лейкоцитозом до начала лечения $\geq 10 \times 10^9/л$) ранняя летальность, по данным Н. Zhao и соавт., составляет 34,3 % [1], по данным N. Dayer и соавт., — 24 % [2]. Одной из причин ранней летальности наряду с геморрагическими и инфекционными осложнениями является дифференцировочный синдром (ДС) — спонтанное или опосредованное дифференцирующей терапией третиноном (ATRA) и/или триоксидом мышьяка (ATO) быстрое созревание опухолевых клеток, приводящее к системному воспалительному ответу и полиорганной недостаточности [3, 4]. Использование схем терапии с минимальным цитотоксическим воздействием и несвоевременная диагностика ДС из-за отсутствия специфичных признаков приводят к увеличению частоты летальных исходов среди пациентов с ОПЛ [4, 5]. Применение глюкокортикостероидов (ГКС) и циторедукции в случае лейкоцитоза в дебюте заболевания способствует снижению частоты летальных и тяжелых

случаев ДС, но побочные эффекты этой терапии ограничивают назначение такой профилактики всем пациентам. Это поднимает проблему поиска достоверных факторов риска развития ДС, особенно когда речь идет о случаях использования программ терапии с минимальным цитотоксическим воздействием или без него.

Инициальный лейкоцитоз $\geq 10 \times 10^9/л$ является наиболее достоверным фактором риска развития ДС [6, 7]. Также часто встречаются сообщения о существовании взаимосвязи между микрогранулярным вариантом морфологии опухолевых клеток, *bcr3*-изоформой *PML::RARα*, мутацией *FLT3*-ITD и высокой частотой развития ДС [7–11].

С микрогранулярным морфологическим вариантом ОПЛ и, следовательно, с высоким риском развития ДС ассоциирована экспрессия бластными клетками маркеров ранних стадий дифференцировки гранулоцитов CD34 и HLA-DR и T-, B-, NK-клеточных маркеров [12, 13]. В ряде работ показана связь высокой частоты развития ДС с экспрессией молекул адгезии на поверхности бластных клеток: CD56 (NCAM-1), CD54 (ICAM-1), CD2 (LFA-2), CD15 (Lewis X), CD13 [8, 14–17]. Обработка бластных клеток препаратом ATRA вызывала развитие лейкоцитоза и увеличение

экспрессии на мембране этих клеток ряда интегринов, сопровождавшееся возникновением лейкоцитоза: CD11a (ITGAL), CD11b (ITGAM), CD11c (ITGAX), CD18 (ITGB2) [18–20].

Также воздействие препарата ATRA приводило к активации хемокиновых рецепторов CCR1, CCR2 и CCR3, CXCR1, CXCR2 и др. на поверхности гранулоцитов, которые, связываясь с вырабатываемыми в тканях и клетках крови хемокинами, запускали миграцию дифференцирующихся клеток в ткани [21, 22]. Помимо активации рецепторов, обработка ATRA и АТО усиливала продукцию клетками CCL1 (I-309), CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL7 (MCP-3), CCL20 (MIP-3 α), CCL22 (MDC), CCL24 (эотаксин 2) и CXCL8 (интерлейкин 8) [21–25]. Одновременно отмечалось повышение сывороточной концентрации интерлейкина 8, MIP-1 β и RANTES (CCL5) [25].

Ценность вышеуказанных данных может быть спорной по ряду причин. Группы пациентов, среди которых проводили исследования, были немногочисленными и гетерогенными. Часть исследований выполняли среди пациентов, получавших только химиотерапевтическое лечение. Также следует отметить, что результаты не всегда удавалось воспроизвести при повторных экспериментах. Таким образом, поиск достоверных факторов риска развития ДС все еще остается актуальным.

Цель исследования — поиск факторов риска развития ДС у пациентов с ОПЛ на фоне терапии ATRA и АТО.

Материалы и методы

В исследование были включены 39 пациентов (17 мужчин и 22 женщины) с подтвержденным ОПЛ. Медиана возраста составила 40 (20–71) лет. В группу низкого риска по ELN (European Leukemia Net) [26] были отнесены 29 (74,4 %) пациентов с дебютным количеством лейкоцитов $<10 \times 10^9/\text{л}$, в группу высокого риска — 10 (25,6 %) пациентов с лейкоцитозом $\geq 10 \times 10^9/\text{л}$.

В дебюте выполняли цитологическое, цитохимическое, цитогенетическое и молекулярное (транскрипт *PML::RARA*, мутация *FLT3-ITD*) исследования костного мозга, определяли экспрессию бластными клетками крови и костного мозга 28 антигенов: маркеров ранних предшественников (CD34, CD117), общих миелоидных маркеров (CD13, CD33, CD371), дополнительных маркеров, экспрессия которых отличается на зрелых и менее зрелых миелоидных клетках (CD38, CD99, CD45RA), маркеров лимфоидной дифференцировки (CD4, CD7, CD19), молекул клеточной адгезии (CD56, CD2, CD146, CD54, CD66b, CD15), хемокиновых рецепторов (CD191, CD192, CD193, CD181, CD182, CD184), интегринов (CD49d, CD11a, CD18, CD11b), селектина (CD62L), индекса гранулярности (отношение величины бокового светорассеяния (side scatter, SSC) промиелоцитов к SSC лимфоцитов). Оценивали индекс массы тела (ИМТ) по формуле: $\text{ИМТ} = \text{масса тела (кг)} / \text{рост (м)}^2$.

Всем пациентам проводили «Риск-адаптированную программу терапии больных ОПЛ (ATRA-АТО-СТ) с обязательным молекулярным мониторингом» [27]. В ходе курса индукции оценивали количество лейкоцитов в динамике.

Пациентам группы высокого риска в дебюте выполняли 1–3 введения идарубицина (12 мг/м² через день внутривенно) и ежедневные введения дексаметазона (8–10 мг/м² 2 раза в день внутривенно) для профилактики ДС до редукции лейкоцитоза.

Дифференцировочный синдром устанавливали при наличии 3 и более следующих признаков при условии отсутствия других причин их возникновения: 1) лихорадка; 2) острая дыхательная недостаточность; 3) увеличение массы тела более 5 кг; 4) отеки; 5) артериальная гипотензия; 6) острое почечное повреждение; 7) рентгенологическая картина острого респираторного дистресс-синдрома; 8) плевральный или перикардальный выпот. В случае подтверждения ДС назначали дексаметазон в дозе 10 мг/м² 2 раза в день внутривенно, при тяжелом течении ДС курс индукции прерывали.

Все пациенты подписали информированное согласие на проведение терапии по программе ATRA-АТО-СТ. Обеспечение и доставка незарегистрированного в России препарата АТО были выполнены с помощью Фонда борьбы с лейкемией после получения разрешения Минздрава России на ввоз препарата.

Для оценки значимости частотных различий использовали точный критерий Фишера. Однофакторный анализ непрерывных переменных выполняли с помощью критерия Стьюдента (t-test). Для многофакторного анализа применяли модель пропорциональных рисков (модель Кокса) и пошаговую логистическую регрессию. Гипотезы о различиях в распределении категориальных признаков в группах сравнения проверяли с помощью таблиц сопряженности. Также использовали метод случайного леса как отдельный метод анализа для ранжирования и выбора наиболее значимых прогностических признаков. Все расчеты проводили с использованием SAS 9.4 и R 4.2.3. Метод случайного леса был реализован с помощью пакета R randomForestSRC.

Результаты

У 34 (87,2 %) из 39 пациентов была достигнута полная ремиссия ОПЛ: в группе низкого риска — у 28 (96,6 %) из 29, в группе высокого риска — у 6 (60 %) из 10. Смерть в индукции зарегистрирована у 1 (3,4 %) из 29 пациентов группы низкого риска и у 4 (40 %) из 10 пациентов группы высокого риска. У 2 пациентов (оба с исходным количеством лейкоцитов $>200 \times 10^9/\text{л}$) смерть наступила от отека головного мозга на фоне кровоизлияния, у 3 — от ДС (2 пациента группы высокого риска, 1 пациент группы низкого риска). В течение 33 мес наблюдения у всех пациентов, достигших ремиссии, рецидивов не зафиксировано.

Развитие ДС было констатировано у 12 (30,8 %) пациентов: у 2 (20 %) из 10 пациентов группы высокого риска и у 10 (34,5 %) из 29 пациентов группы низкого риска (табл. 1). Медиана времени до развития ДС составила 6 (1–14) дней. Медиана времени максимального лейкоцитоза на фоне курса индукции у всех пациентов составила 8 (1–30) дней, у пациентов группы низкого риска, не получавших профилактики ДС, – 12 (1–30) дней.

Всем пациентам с подтвержденным ДС проводили терапию дексаметазоном в дозе 10 мг/м² 2 раза в день. Прерывание специфической терапии потребовалось 5 пациентам, 3 пациентам вводили цитарабин 100 мг внутривенно в целях циторедукции. Частота развития и медиана времени до развития ДС в группах высокого и низкого риска статистически значимо не различались.

Однофакторный анализ показал, что значимым предиктором развития ДС (из клинико-anamнестиче-

ских и неиммунофенотипических показателей) являлся только повышенный уровень ИМТ ≥ 30 кг/м² ($p = 0,02$) (табл. 2).

Статистически значимая ассоциация микрогранулярной морфологии бластных клеток, *bcr3*-варианта *PML::RAR α* , мутации *FLT3*-ITD с развитием ДС не установлена. При использовании пошаговой модели Кокса также значимым оказался только повышенный уровень ИМТ ≥ 30 кг/м² (рис. 1).

Был проведен однофакторный анализ определения прогностической значимости экспрессии антигенов на поверхности опухолевых клеток для развития ДС. Среди параметров, полученных при иммунофенотипировании опухолевых клеток костного мозга, статистически значимыми оказались плотность экспрессии на мембране бластных клеток костного мозга (средняя интенсивность флуоресценции (СИФ)) антигенов CD38 ($p = 0,0087$) (рис. 2), CD34 ($p = 0,0073$), CD192 ($p = 0,025$), CD184 ($p = 0,029$) и доля клеток,

Таблица 1. Характеристика дифференцировочного синдрома (ДС) в зависимости от группы риска по ELN (European Leukemia Net)

Table 1. Differentiation syndrome (DS) characteristics depending on the ELN (European Leukemia Net) risk group

Показатель Parameter	Все пациенты (<i>n</i> = 39) All patients (<i>n</i> = 39)	Группа низкого риска (<i>n</i> = 29) Low risk group (<i>n</i> = 29)	Группа высокого риска (<i>n</i> = 10) High risk group (<i>n</i> = 10)	<i>p</i>
Случаи развития ДС, <i>n</i> (%) DS cases, <i>n</i> (%)	12 (30,8)	10 (34,5)	2 (20)	0,392
Смерть от ДС, <i>n</i> (%) Death from DS, <i>n</i> (%)	3 (7,7)	1 (3,4)	2 (20)	
Медиана времени развития ДС (диапазон), дни Median time of DS development (range), days	6 (1–14)	6 (1–14)	12 (10–14)	0,693
Степень тяжести ДС, <i>n</i> (%): DS severity, <i>n</i> (%):				
средняя moderate	6 (50)	5 (50)	1 (50)	
тяжелая severe	6 (50)	5 (50)	1 (50)	
Клинические проявления ДС, <i>n</i> (%): Clinical manifestations of DS, <i>n</i> (%):				
лихорадка fever	11 (91,7)	9 (90)	2 (100)	
периферические отеки, выпоты peripheral edema, effusions	11 (91,7)	9 (90)	2 (100)	
увеличение массы тела более 5 кг increase in body weight more than 5 kg	8 (66,7)	7 (70)	1 (50)	
острая дыхательная недостаточность acute respiratory failure	9 (75)	7 (70)	2 (100)	
острое почечное повреждение acute kidney injury	3 (25)	2 (20)	1 (50)	
артериальная гипотензия arterial hypotension	3 (25)	2 (620)	1 (50)	
рентгенологическая картина ДС X-ray picture of DS	4 (33,3)	(40)	0	
Прерывание курса индукции из-за ДС, <i>n</i> (%) Interruption of induction course due to DS, <i>n</i> (%)	5 (41,7)	4 (40)	1 (50)	

Таблица 2. Характеристика больных острым промиелоцитарным лейкозом в зависимости от развития дифференцировочного синдрома
Table 2. Characteristics of patients with acute promyelocytic leukemia depending on differentiation syndrome development

Характеристика Characteristic	Пациенты с дифференцировочным синдромом (n = 12) With differentiation syndrome (n = 12)	Пациенты без дифференцировочного синдрома (n = 27) Without differentiation syndrome (n = 27)	p
Пол, n (%): Gender, n (%): женский female мужской male	7 (58,3) 5 (41,7)	15 (55,6) 17 (63)	0,872
Медиана возраста (диапазон), лет Median age (range), years	44 (29–65)	36 (20–71)	0,635
Индекс массы тела ≥30 кг/м², n (%) Body mass index ≥30 kg/m², n (%)	7 (58,3)	4 (14,8)	0,02
Количество лейкоцитов в дебюте, n (%): Leukocyte count at debut, n (%): <10 × 10 ⁹ /л <10 × 10 ⁹ /L ≥10 × 10 ⁹ /л ≥10 × 10 ⁹ /L ≥20 × 10 ⁹ /л ≥20 × 10 ⁹ /L ≥40 × 10 ⁹ /л ≥40 × 10 ⁹ /L ≥60 × 10 ⁹ /л ≥60 × 10 ⁹ /L	10 (83,3) 2 (16,7) 2 (16,7) 1 (8,3) 1 (8,3)	19 (70,4) 8 (29,6) 4 (14,8) 3 (11,1) 3 (11,1)	1,00
Морфология бластных клеток, n (%): Morphology of blasts, n (%): макрогранулярная macrogranular микрогранулярная microgranular	11 (91,7) 1 (8,3)	19 (70,4) 8 (29,6)	0,145
Тип транскрипта <i>PML::RARA</i> , n (%): <i>PML::RARA</i> transcript type, n (%): <i>bcr1</i> <i>bcr2</i> <i>bcr3</i>	9 (75) 1 (8,3) 2 (16,7)	17 (63) 0 10 (37)	0,169
Наличие мутации <i>FLT3</i> -ITD, n (%) <i>FLT3</i> -ITD mutation, n (%)	5 (41,7)	10 (37)	0,309
Медиана длительности от начала заболевания до назначения АТО (диапазон), дни Median duration from the disease onset to ATO (range), days	36 (8–120)	23 (6–288)	0,1104
Медиана длительности от назначения АТРА до назначения АТО (диапазон), дни Median duration from ATRA administration to ATO administration (range), days	2 (0–6)	1 (0–9)	0,437

Примечание. АТО – триоксид мышьяка; АТРА – третиноин.
Note. ATO – arsenic trioxide; ATRA – tretinoin.

экспрессирующих CD38 ($p = 0,016$). При оценке значимости параметров, полученных при иммунофенотипировании опухолевых клеток крови, значимой оказалась СИФ CD34 ($p = 0,031$).

Среди оказавшихся значимыми при проведении однофакторного анализа признаков иммунофенотипирования бластных клеток костного мозга и крови был проведен многофакторный анализ (пошаговая

логистическая регрессия): в результате статистически значимым явился только признак СИФ CD38 опухолевыми клетками костного мозга (рис. 3).

Также была построена модель с помощью метода машинного обучения – случайного леса. В качестве целевой переменной было принято развитие ДС, в качестве факторов – показатели экспрессии маркеров на опухолевых клетках крови и костного мозга. Наибольшую

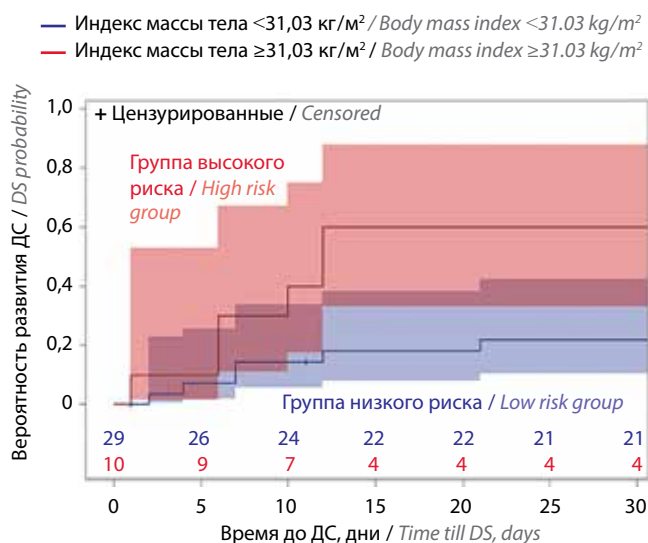


Рис. 1. Оценка вероятности развития дифференцировочного синдрома (ДС) в зависимости от индекса массы тела

Fig. 1. Estimation of the differentiation syndrome (DS) probability depending on body mass index

важность в результирующей модели также имел фактор СИФ CD38 на опухолевых клетках костного мозга. Для определения оптимального порогового значения СИФ CD38, при котором необходимо начинать профилактические мероприятия для предотвращения развития ДС, был проведен ROC-анализ: в качестве порогового было выбрано значение 25 000 у. е., при котором кривые чувствительности и специфичности пересекаются (рис. 4).

В процессе терапии отмечалось развитие лейкоцитоза разной степени выраженности — от $2,3$ до $235 \times 10^9/\text{л}$ (медиана $24,3 \times 10^9/\text{л}$) (табл. 3).

При сравнении относительного прироста количества лейкоцитов было показано, что у пациентов с последующим развитием ДС выявлено статистически значимое преобладание прироста количества лейкоцитов как до начала лечения, так и в ходе курса индукции ремиссии. У пациентов без ДС на графиках динамики среднего количества лейкоцитов отмечается постепенное его снижение после начала курса индукции, а у пациентов с ДС визуализируются 2 пика роста, что отражает значимость в развитии ДС относительного прироста количества лейкоцитов как до начала терапии, так и на фоне курса индукции (рис. 5). В группе высокого риска изначально большие значения количества лейкоцитов в динамике снижаются, что обусловлено проводимой профилактикой ДС и введением идарубицина. В группе низкого риска видна та же динамика роста при изначально небольших значениях, как и на графике для группы с ДС (рис. 6).

Обсуждение

В нашем исследовании частота развития ДС у пациентов с ОПЛ составила 30,8 %. По данным других авторов, этот показатель варьирует от 15 до 48 % [7, 14, 28–30]. Следует отметить, что неожиданно среди пациентов с диагностированным ДС преобладали пациенты группы низкого риска (10 (83,3 %) из 12). Возможным объяснением этому является тот факт, что пациенты без лейкоцитоза в дебюте заболевания не получали циторедуктивной терапии и профилактического лечения дексаметазоном, несмотря на нарастание лейкоцитоза в динамике. Эти данные позволяют говорить о необходимости назначения ГКС пациентам, у которых лейкоцитоз развивается на фоне дифференцирующей терапии или у которых был отмечен рост

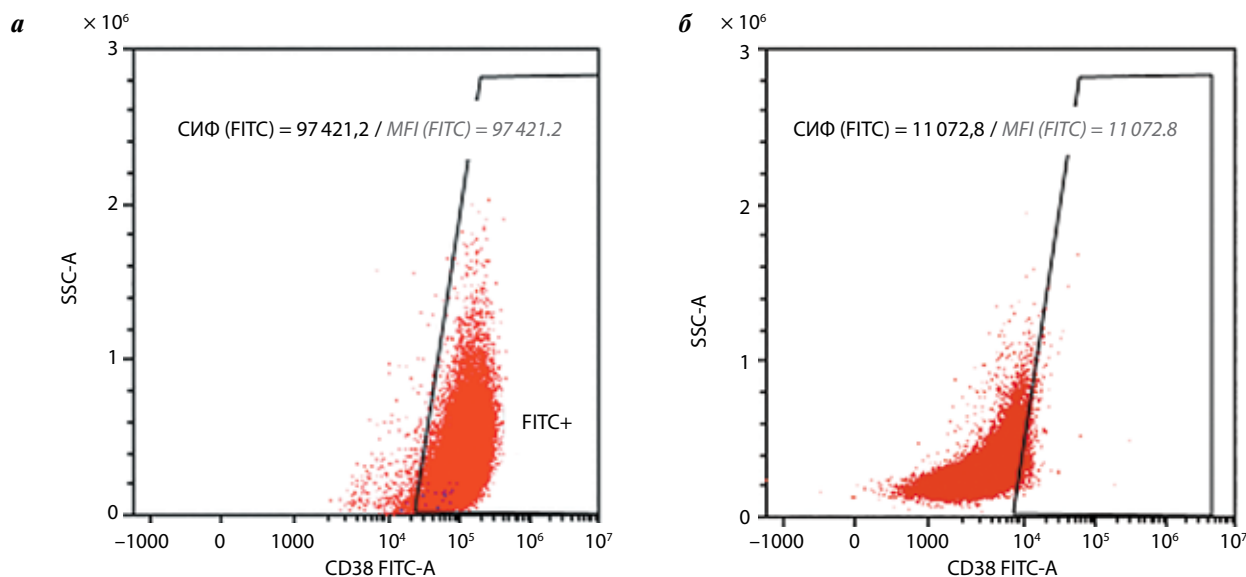


Рис. 2. Средняя интенсивность флуоресценции (СИФ) антигена CD38 бластными клетками костного мозга у пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом с дифференцировочным синдромом (а) и без него (б). FITC — флуоресцеин

Fig. 2. CD38 mean fluorescence intensity (MFI) by bone marrow blast cells in patients with acute promyelocytic leukemia with differentiation syndrome (a) and without it (b). FITC — fluorescein

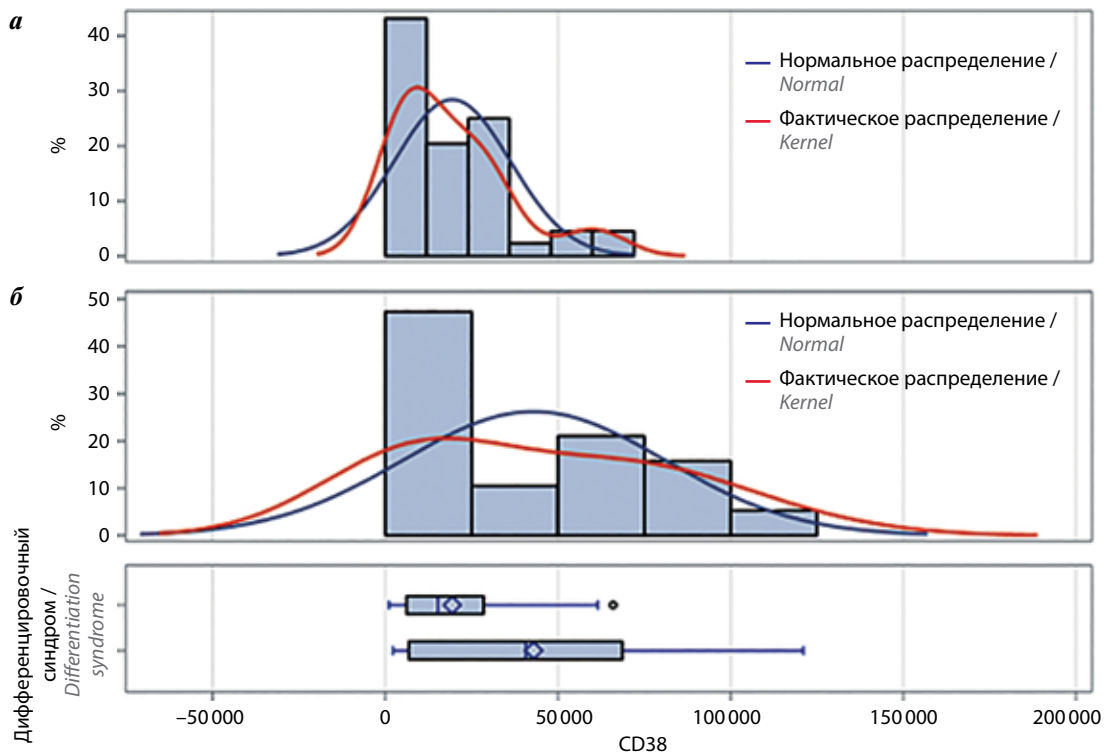


Рис. 3. Сравнение средней интенсивности флуоресценции антигена CD38 бластными клетками костного мозга у пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом с дифференцировочным синдромом (а) и без него (б)
Fig. 3. Comparisons of CD38 mean fluorescence intensity by bone marrow blast cells in patients with acute promyelocytic leukemia with differentiation syndrome (a) and without it (b)

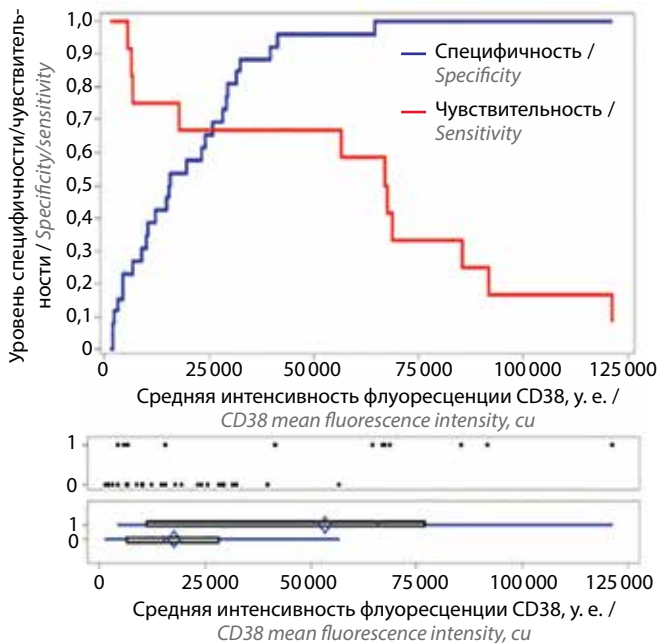


Рис. 4. Кривые чувствительности и специфичности средней интенсивности флуоресценции CD38 как предиктора развития дифференцировочного синдрома
Fig. 4. Sensitivity and specificity curves for CD38 mean fluorescence intensity as a predictor of differentiation syndrome

количества лейкоцитов до начала лечения. В сравнительном исследовании Р. Montesinos и соавт. было продемонстрировано, что частота развития ДС тяжелой степени ниже в подгруппе, в которой все пациенты вне

зависимости от группы риска получали профилактику ГКС на протяжении курса индукции ремиссии, чем в подгруппе, в которой ГКС назначали только пациентам группы высокого риска, однако летальность в обеих подгруппах была сопоставимой [3, 7]. Также следует сказать, что это сравнительное исследование было выполнено у пациентов, которым проводили терапию по протоколу AIDA, включающему цитостатическое воздействие. У пациентов, которых лечили АТО-содержащими курсами, насколько нам известно, такие исследования не проводились.

Итоги ранее опубликованных исследований, в которых приводились данные о статистически значимой ассоциации ДС с микрогранулярным вариантом морфологии опухолевых клеток, *bcr3*-изоформой *PML::RARα*, мутацией *FLT3-ITD*, нами не были подтверждены. Возможно, это связано с преобладанием пациентов с количеством лейкоцитов в дебюте $<10 \times 10^9/\text{л}$ в группе с ДС, а именно лейкоцитоз в дебюте связан с описанными характеристиками опухолевых клеток. Кроме этого, все эти закономерности получены при использовании цитостатических программ лечения ОПЛ.

Единственным статистически значимым клиническим предиктором ДС стал ИМТ $\geq 30 \text{ кг/м}^2$, что соотносится с результатами исследований R. Jeddi и соавт. [31], В.В. Троицкой [32]. Объяснить такую связь можно 2 причинами. Во-первых, пациенты с избыточной массой тела получают большие дозы АТРА и АТО.

Таблица 3. Характеристика лейкоцитоза у пациентов в процессе курса индукции

Table 3. Characteristics of leukocytosis in patients during the induction course

Показатель Parameter	Все пациенты (n = 39) All patients (n = 39)	Пациенты с дифференцировочным синдромом (n = 12) With differentiation syndrome (n = 12)	Пациенты без дифференцировочного синдрома (n = 27) Without differentiation syndrome (n = 27)	p
Медиана максимального количества лейкоцитов в ходе индукции (диапазон), $\times 10^9/\text{л}$ Median maximum leukocyte count during induction (range), $\times 10^9/\text{L}$	24,3 (2,3–235)	47,3 (9,2–187)	16,4 (2,3–235)	0,0702
Медиана времени до максимального лейкоцитоза (диапазон), дни Median time to maximum leukocytosis (range), days	8 (1–30)	7,5 (1–15)	8 (1–30)	0,176
Медиана относительного прироста количества лейкоцитов до индукции (диапазон), $\times 10^9/\text{л}$ Median relative increase in leukocyte count before induction (range), $\times 10^9/\text{L}$	7,87 (0,30–58,1)	7,87 (0,66–58,1)	1,4 (0,30–7,1)	<0,0001
Медиана относительного прироста количества лейкоцитов в ходе индукции (диапазон), $\times 10^9/\text{л}$ Median relative increase in leukocyte count during induction (range), $\times 10^9/\text{L}$	3,3 (0,8–114,2)	10,1 (1–86,5)	2,6 (0,8–114,2)	<0,0001

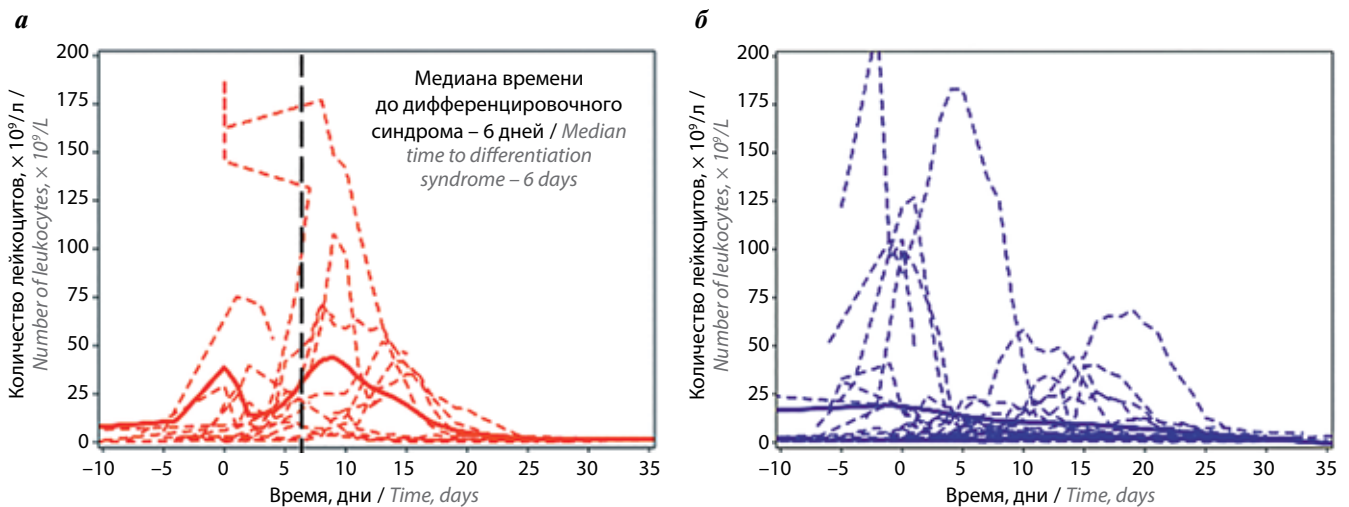


Рис. 5. Графики индивидуальной динамики количества лейкоцитов в ходе курса индукции у пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом с дифференцировочным синдромом (а) и без него (б) (жирная линия — среднее значение)

Fig. 5. Graphs of individual leukocyte count dynamics during the induction course in patients with acute promyelocytic leukemia with differentiation syndrome (a) and without it (b) (thick line — average value)

Во-вторых, опухолевые промиелоциты, в отличие от нормальных, несут на своей поверхности рецептор к вырабатываемому адипоцитами лептину (OB-R), а точнее к его длинной изоформе. Лептин, взаимодействуя с OB-R опухолевых клеток, посредством активации сигнального пути JAK-STAT приводит к пролиферации промиелоцитов и снижению индуцированного ATRA апоптоза [33]. Неизвестно, влияет ли избыточная масса тела на длительность ремиссий, что также открывает новые возможности для исследований.

Из всех исследованных параметров иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга статистически значимым в отношении развития ДС оказалась

только СИФ CD38 бластными клетками костного мозга — антигена дифференцировки плазматических клеток, Т- и В-лимфоцитов, который в том числе экспрессируется миелоидными клетками-предшественниками на их ранних стадиях созревания. Неоднократно было показано, что обработка миелоидных предшественников ATRA приводила к активации и увеличению экспрессии CD38, что способствовало усилению адгезии промиелоцитов к поверхности эндотелия [34, 35]. По результатам нашего исследования СИФ антигена CD38 <25000 у. е. свидетельствует о высокой вероятности развития ДС. Однако CD38 — один из большинства экспрессирующихся на поверхности опухолевых

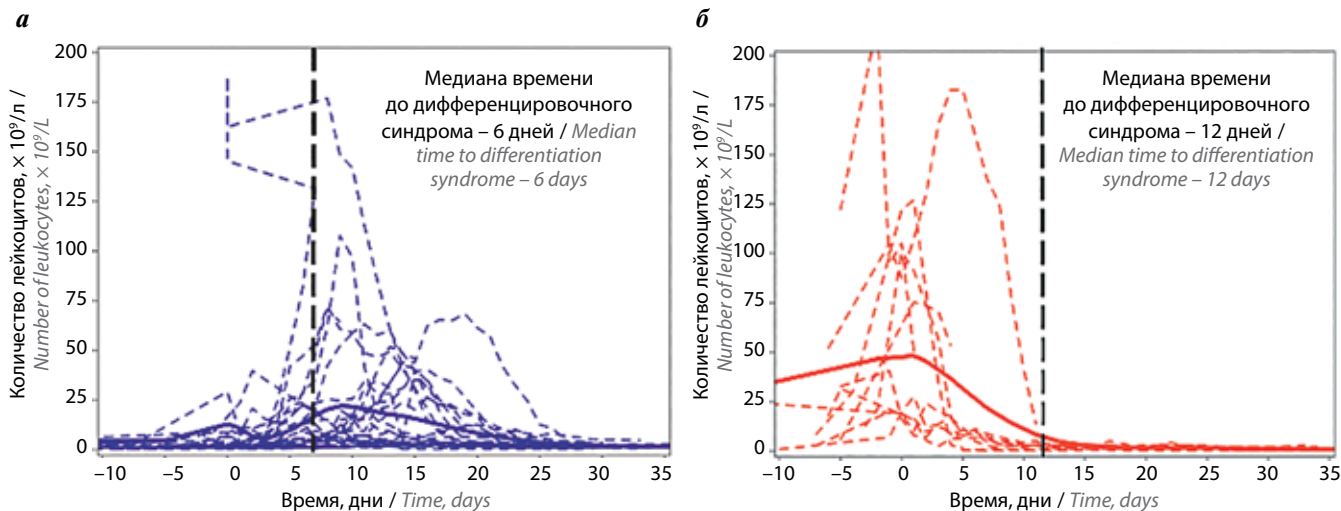


Рис. 6. Графики индивидуальной динамики количества лейкоцитов в ходе курса индукции у пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом групп низкого (а) и высокого (б) риска (жирная линия — среднее значение)

Fig. 6. Graphs of individual leukocyte count dynamics during the induction course in patients with acute promyelocytic leukemia from low (a) and high (b) risk groups (thick line — average value)

клеток крови антигенов, которые принимают участие в патогенезе ДС, что указывает на необходимость использования иммунофенотипирования методом проточной цитометрии для поиска признаков и предикторов развития ДС.

Заключение

В исследовании мы продемонстрировали значимость ИМТ ≥ 30 кг/м², СИФ антигена CD38, относительного прироста количества лейкоцитов до начала

и в процессе индукционной терапии в качестве предикторов развития ДС. Развитие ДС преимущественно среди пациентов группы низкого риска, не получавших ГКС и цитостатические препараты, доказывает необходимость проведения профилактической терапии пациентам с быстрым приростом количества лейкоцитов до назначения АТО или лейкоцитозом, развившимся на фоне лечения. Несмотря на активно проводимые исследования в направлении ОПЛ и ДС, остается ряд нерешенных вопросов, требующих дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Zhao H., Zhao Y., Zhang Y. et al. Difference in causes and prognostic factors of early death between cohorts with *de novo* and relapsed acute promyelocytic leukemia. *Ann Hematol* 2018;97:409–16. DOI: 10.1007/s00277-017-3216-2
- Daver N., Kantarjian H., Marcucci G. et al. Clinical characteristics and outcomes in patients with acute promyelocytic leukaemia and hyperleucocytosis. *Br J Haematol* 2015;168(5):646–53. DOI: 10.1111/bjh.13189
- De La Serna J., Montesinos P., Vellenga E. et al. Causes and prognostic factors of remission induction failure in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and idarubicin. *Blood* 2008;111(7):3395–402. DOI: 10.1182/BLOOD-2007-07-100669
- Sanz M.A., Montesinos P. How we prevent and treat differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia. *Blood* 2014;123(18):2777–82. DOI: 10.1182/blood-2013-10-512640
- Lo-Coco F., Avvisati G., Vignetti M. et al. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto, German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group, & Study Alliance Leukemia. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013;369:111–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1300874
- Троицкая В.В., Паровичникова Е.Н., Семенова А.А. и др. Риск-адаптированная терапия триоксидом мышьяка в сочетании с полностью транс-ретиноевой кислотой больных впервые выявленным острым промиелоцитарным лейкозом. *Гематология и трансфузиология* 2021;66(2):168–91. DOI: 10.35754/0234-5730-2021-66-2-168-191
- Troitskaya V.V., Parovichnikova E.N., Semenova A.A. et al. Risk-adapted combined therapy with arsenic trioxide and all-trans-retinoic acid for *de novo* acute promyelocytic leukaemia. *Gematologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology* 2021;66(2):168–91. (In Russ.). DOI: 10.35754/0234-5730-2021-66-2-168-191
- Montesinos P., Bergua J.M., Vellenga E. et al. Differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and anthracycline chemotherapy: characteristics, outcome, and prognostic factors. *Blood* 2009;113(4):775–83. DOI: 10.1182/BLOOD-2008-07-168617
- Breccia M., Latagliata R., Carmosino I. et al. Clinical and biological features of acute promyelocytic leukemia patients developing retinoic acid syndrome during induction treatment with all-trans retinoic acid and idarubicin. *Haematologica* 2008;93(12):1918–20. DOI: 10.3324/haematol.13510
- Kiyoi H., Naoe T., Yokota S. et al. Internal tandem duplication of FLT3 associated with leukocytosis in acute promyelocytic leukemia. *Leukemia Study Group of the Ministry of Health and Welfare (Kohseisho)*. *Leukemia* 1997;11(9):1447–52. DOI: 10.1038/sj.leu.2400756
- Gale R.E., Hills R., Pizzey A.R. et al. NCRI Adult Leukaemia Working Party. Relationship between FLT3 mutation status, biologic characteristics, and response to targeted therapy in acute

- promyelocytic leukemia. *Blood* 2005;106(12):3768–76. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1746
11. Souza Melo C.P., Campos C.B., Dutra Á.P. et al. Correlation between FLT3-ITD status and clinical, cellular and molecular profiles in promyelocytic acute leukemias. *Leuk Res* 2015;39(2):131–7. DOI: 10.1016/j.leukres.2014.11.010
 12. Brain B. Acute promyelocytic leukemia. *Leuk Diagnosis Blackwell*. Malden, MA, 1999. Pp. 14–19.
 13. Golomb H.M., Rowley J.D., Vardiman J.W. et al. “Microgranular” acute promyelocytic leukemia: a distinct clinical, ultrastructural, and cytogenetic entity. *Blood* 1980;55(2):253–9.
 14. Vahdat L., Maslak P., Miller W.H. et al. Early mortality and the retinoic acid syndrome in acute promyelocytic leukemia: impact of leukocytosis, low-dose chemotherapy, PMN/RAR- α isoform, and CD13 expression in patients treated with all-trans retinoic acid. *Blood* 1994;84(11):3843–9. DOI: 10.1182/BLOOD.V84.11.3843.BLOODJOURNAL84113843
 15. Lou Y., Ma Y., Suo S. et al. Prognostic factors of patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia treated with arsenic trioxide-based frontline therapy. *Leuk Res* 2015;39(9):938–44. DOI: 10.1016/j.leukres.2015.05.016
 16. Breccia M., De Propriis M.S., Minotti C. et al. Aberrant phenotypic expression of CD15 and CD56 identifies poor prognostic acute promyelocytic leukemia patients. *Leuk Res* 2014;38(2):194–7. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.11.008
 17. Claxton D.F., Reading C.L., Nagarajan L. et al. Correlation of CD2 expression with *PML* gene breakpoints in patients with acute promyelocytic leukaemia. *Blood* 1992;80(3):582–6.
 18. Zang C., Liu H., Ries C. et al. Enhanced migration of the acute promyelocytic leukemia cell line NB4 under *in vitro* conditions during short-term all-transretinoic acid treatment. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000;126:33–40. DOI: 10.1007/pl00008462
 19. Wu J.J., Cantor A., Moscinski L.C. beta2 Integrins are characteristically absent in acute promyelocytic leukemia and rapidly upregulated *in vivo* upon differentiation with all-trans retinoic acid. *Leuk Res* 2007;31(1):49–57. DOI: 10.1016/j.leukres.2006.04.012
 20. Cunha De Santis G., Tamarozzi M.B., Sousa R.B. et al. Adhesion molecules and differentiation syndrome: phenotypic and functional analysis of the effect of ATRA, As2O3, phenylbutyrate, and G-CSF in acute promyelocytic leukemia. *Haematologica* 2007;92(12):1615–22. DOI: 10.3324/haematol.10607
 21. Luesink M., Pennings J.L., Wissink W.M. et al. Chemokine induction by all-trans retinoic acid and arsenic trioxide in acute promyelocytic leukemia: triggering the differentiation syndrome. *Blood* 2009;114(27):5512–21. DOI: 10.1182/blood-2009-02-204834
 22. Zhou J., Hu L., Cui Z. et al. Interaction of SDF-1 α and CXCR4 plays an important role in pulmonary cellular infiltration in differentiation syndrome. *Int J Hematol* 2010;91(2):293–302. DOI: 10.1007/s12185-009-0488-x
 23. Tsai W.H., Shih C.H., Lin C.C. et al. Monocyte chemotactic protein-1 in the migration of differentiated leukaemic cells toward alveolar epithelial cells. *Eur Respir J* 2008;31(5):957–62. DOI: 10.1183/09031936.00135707
 24. Behringer D., Schauffer J., Kresin V. et al. Differentiation associated modulation of the cytokine and chemokine expression pattern in human myeloid cell lines. *Leuk Res* 2001;25(2):141–9. DOI: 10.1016/s0145-2126(00)00091-6
 25. Shibakura M., Niiya K., Niiya M. et al. Induction of CXC and CC chemokines by all-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia cells. *Leuk Res* 2005;29(7):755–9. DOI: 10.1016/j.leukres.2005.01.005
 26. Sanz M.A., Fenaux P., Tallman M.S. et al. Management of acute promyelocytic leukemia: updated recommendations from an expert panel of the European Leukemia Net. *Blood* 2019;133(15):1630–43. DOI: 10.1182/BLOOD-2019-01-894980
 27. Троицкая В.В., Паровичникова Е.Н., Соколов А.Н. и др. Исследовательский протокол «Риск-адаптированная программа терапии больных ОПЛ (АТРА-АТО-СТ) с обязательным молекулярным мониторингом». В кн.: Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред.: В.Г. Савченко. М.: Практика, 2018. С. 961–993. Troitskaya V.V., Parovichnikova E.N., Sokolov A.N. et al. Research protocol “Risk-adapted therapy program for patients with APL (ATRA-ATO-CT) with mandatory molecular monitoring. In: Diagnostic algorithms and treatment protocols for blood system diseases. Ed.: V.G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2018. Pp. 961–993. (In Russ.).
 28. Wiley J.S., Firkin F.C. Reduction of pulmonary toxicity by prednisolone prophylaxis during all-trans retinoic acid treatment of acute promyelocytic leukemia. *Australian Leukaemia Study Group. Leukemia* 1995;9(5):774–8.
 29. De Botton S., Dombret H., Sanz M. et al. Incidence, clinical features, and outcome of all trans-retinoic acid syndrome in 413 cases of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *The European APL Group. Blood* 1998;92(8):2712–8.
 30. Tallman M.S., Andersen J.W., Schiffer C.A. et al. Clinical description of 44 patients with acute promyelocytic leukemia who developed the retinoic acid syndrome. *Blood* 2000;95(1):90–5.
 31. Jeddi R., Ghédira H., Mnif S. et al. High body mass index is an independent predictor of differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia. *Leuk Res* 2010;34(4):545–7. DOI: 10.1016/j.leukres.2009.09.017
 32. Троицкая В.В. Риск-адаптированная стратегия терапии острого промиелоцитарного лейкоза и острых лейкозов у беременных женщин. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2023. 46 с. Troitskaya V.V. Risk-adapted strategy for the treatment of acute promyelocytic leukemia and acute leukemia in pregnant women. Dis. ... doctor of medical sciences. Moscow, 2023. 46 p. (In Russ.).
 33. Tabe Y., Konopleva M., Munsell M.F. et al. PML-RAR α is associated with leptin-receptor induction: the role of mesenchymal stem cell-derived adipocytes in APL cell survival. *Blood* 2004;103(5):1815–22. DOI: 10.1182/blood-2003-03-0802
 34. Gao Y., Camacho L.H., Mehta K. Retinoic acid-induced CD38 antigen promotes leukemia cells attachment and interferon-gamma/interleukin-1 β -dependent apoptosis of endothelial cells: implications in the etiology of retinoic acid syndrome. *Leuk Res* 2007;31(4):455–63. DOI: 10.1016/j.leukres.2006.07.004
 35. Drach J., McQueen T., Engel H. et al. Retinoic acid-induced expression of CD38 antigen in myeloid cells is mediated through retinoic acid receptor- α . *Cancer Res* 1994;54(7):1746–52.

Вклад авторов

А.А. Семенова: обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста статьи, получение данных для анализа;

И.В. Гальцева, В.В. Троицкая, Е.Н. Паровичникова: разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста статьи;

Н.М. Капранов, Ю.О. Давыдова, К.А. Никифорова, А.Г. Лосева, А.А. Ермолаев: получение данных для анализа;

В.А. Суримова, С.М. Куликов: статистическая обработка данных.

Authors' contributions

A.A. Semenova: reviewing of publications on the article's topic, study design development, data analysis, article writing, data obtaining;

I.V. Galtseva, V.V. Troitskaya, E.N. Parovichnikova: study design development, data analysis, article writing;

N.M. Kapranov, Yu.O. Davydova, K.A. Nikiforova, A.G. Loseva, A.A. Ermolaev: data obtaining;

V.A. Surimova, S.M. Kulikov: statistical analysis.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Семенова / A.A. Semenova: <https://orcid.org/0000-0002-0201-8680>

И.В. Гальцева / I.V. Galtseva: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>

В.В. Троицкая / V.V. Troitskaya: <https://orcid.org/0000-0002-4827-8947>

Н.М. Капранов / N.M. Kapranov: <https://orcid.org/0000-0002-6512-910X>

Ю.О. Давыдова / Yu.O. Davydova: <https://orcid.org/0000-0001-5932-0285>

К.А. Никифорова / K.A. Nikiforova: <https://orcid.org/0000-0002-4119-7175>

А.Г. Лосева / A.G. Loseva: <https://orcid.org/0009-0004-1097-2046>

В.А. Суримова / V.A. Surimova: <https://orcid.org/0009-0004-0323-1493>

С.М. Куликов / S.M. Kulikov: <https://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России. Протокол № 163 от 28.04.2022.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia. Protocol No. 163 dated 28.04.2022.

All patients gave written informed consent to participate in the study.