

Иммунологические особенности костномозгового микроокружения и оценка поражения костного мозга у пациентов при классической лимфоме Ходжкина

А.А. Мельникова¹, Ф.М. Аббасбейли^{2,3}, Т.Ю. Мушкарина¹, М.А. Вернюк³, П.А. Зейналова^{2,4},
Л.Ю. Гривцова¹, С.А. Иванов^{1,5}, А.Д. Каприн^{3,5,6}

¹Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 249031 Обнинск, ул. Маршала Жукова, 10;

²Клинический госпиталь «Лапино» группы компаний «Мать и дитя»; Россия, 143081 Московская обл., д. Лапино, 1-е Успенское шоссе, 111;

³Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский пр-д, 3;

⁴ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

⁵ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

⁶ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 249036 Обнинск, ул. Королева, 4

Контакты: Анжелика Александровна Мельникова angelik_melnikova@mail.ru

Введение. Изучение опухолевого поражения костного мозга — необходимый этап стадирования болезни как при неходжкинских лимфомах, так и в случае лимфомы Ходжкина (ЛХ). Стандартно оценка поражения костного мозга проводится на основании данных иммуногистохимического исследования трепанобиоптата костного мозга, однако в последнее время внедряются компьютерные технологии — позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией. Вместе с тем иммунологические методы выявления опухолевых клеток с использованием многоцветной проточной цитометрии более доступны. Кроме того, они позволяют проводить углубленное изучение особенностей опухолевого костномозгового микроокружения.

Цель исследования — оценить иммуноморфологические особенности костного мозга при ЛХ и возможность выявления специфического поражения костного мозга методом проточной цитометрии.

Материалы и методы. Проанализированы 107 образцов пунктатов костного мозга у больных различными вариантами классической ЛХ, диагностика и лечение которых проводились на базе клинического госпиталя «Лапино» и МНИОИ им. П.А. Герцена в период с 2018 по 2022 г.

Результаты. Показаны особенности субпопуляционного состава лимфоцитов костного мозга у пациентов с классической ЛХ.

Заключение. Проведена иммунологическая оценка степени вовлечения костного мозга, сопоставлены данные проточной цитометрии и иммуногистохимического исследования трепаната при первичной диагностике, оценены особенности субпопуляционного состава лимфоцитов костного мозга. Изучена взаимосвязь данных факторов на диагностическом этапе при классических вариантах ЛХ. На этапе окончания лечения первичные иммунологические данные (степень вовлечения костного мозга) сопоставлены с данными позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, костный мозг, клетка Березовского–Рид–Штернберга, проточная цитометрия, субпопуляционный состав лимфоцитов

Для цитирования: Мельникова А.А., Аббасбейли Ф.М., Мушкарина Т.Ю. и др. Иммунологические особенности костномозгового микроокружения и оценка поражения костного мозга у пациентов при классической лимфоме Ходжкина. Онкогематология 2024;19(3):92–8.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-3-92-98>

Immunological features of the bone marrow microenvironment and assessment of bone marrow lesions in patients with classical Hodgkin lymphoma

A.A. Melnikova¹, F.M. Abbasbeyli^{2,3}, T.Yu. Mushkarina¹, M.A. Vernyuk³, P.A. Zeynalova^{2,4}, L.Yu. Grivtsova¹,
S.A. Ivanov^{1,5}, A.D. Kaprin^{3,5,6}

¹A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 10 Marshala Zhukova St., Obninsk 249031, Russia;

²Clinical Hospital “Lapino” of the “Mother and Child” Group of companies; 111 1st Uspenskoe Shosse, Lapino, Moscow region 143081, Russia;

³P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute — branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 3 2nd Botkinskiy Proezd, Moscow 125284, Russia;

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Build. 1, 8 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia;

⁵Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia;

⁶National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 4 Koroleva St., Obninsk 249036, Russia

Contacts: Anzhelika Aleksandrovna Melnikova angelik_melnikova@mail.ru

Background. The study of bone marrow involvement is a necessary step in disease staging, both in non-Hodgkin lymphomas and in the case of Hodgkin lymphoma (HL). The standard assessment of bone marrow lesion is carried out based on immunohistochemical examination of bone marrow trepanobiopsy, and recently computer technologies (positron emission tomography combined with computed tomography) have been introduced to assess bone marrow involvement. At the same time, immunological methods for detecting tumor cells using multicolor flow cytometry are more available. In addition, they allow for detailed study of the tumor bone marrow microenvironment.

Aim. To evaluate the immunomorphological features of bone marrow in HL and the possibility of identifying specific bone marrow lesions using flow cytometry.

Materials and methods. The study included the analysis of 107 bone marrow samples. The samples were obtained from 107 patients with various variants of classical HL, diagnosed and treated at the Lapino Clinical Hospital and the P.A. Herzen Moscow State Medical Institute from 2018 to 2022.

Results. The features of bone marrow lymphocytes subpopulation in patients with classical HL are shown.

Conclusion. An immunological assessment of bone marrow involvement degree was carried out, data from flow cytometry and immunohistochemical examination of trephine biopsy specimens during primary diagnosis were compared, and the features of bone marrow lymphocytes subpopulation were evaluated. The interrelation of these factors at the diagnostic stage in classical variants of HL was studied. At the end of treatment, the primary immunological data (the degree of bone marrow involvement) were compared with the results of the positron emission tomography combined with computed tomography.

Keywords: Hodgkin's lymphoma, bone marrow, Berezovsky–Reed–Sternberg cell, flow cytometry, immunohistochemical examination, positron emission tomography combined with computed tomography

For citation: Melnikova A.A., Abbasbeyli F.M., Mushkarina T.Yu. et al. Immunological features of the bone marrow microenvironment and assessment of bone marrow lesions in patients with classical Hodgkin lymphoma. *Onkologematologiya = Oncohematology* 2024;19(3):92–8. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-3-92-98>

Введение

Лимфома Ходжкина (ЛХ) — это В-клеточное злокачественное лимфопролиферативное заболевание с уникальной особенностью — значительным преобладанием клеток реактивного микроокружения над опухолевыми. Патологический субстрат ЛХ представлен гигантскими клетками Березовского—Рид—Штернберга (БРШ) и их моноклеарными аналогами (клетки Ходжкина), лакунарными, мумифицированными, LP-клетками [1].

Успехи в лечении ЛХ очевидны: 5-летняя выживаемость составляет 90–99 % для ранней стадии заболевания и 83–95 % — для поздней [2]. Причина этого заключается в биологических особенностях опухоли, ее очагов, а также микроокружения. Так, плохой прогноз в случае классического варианта ЛХ (кЛХ) ассоциирован с экспрессией в клетках БРШ макрофагального антигена CD68 и вовлечением в патологический процесс костного мозга [3–5].

На протяжении десятилетий «золотым стандартом» для морфологической и иммуногистохимической оценки костного мозга при ЛХ является трепано-

биопсия костного мозга (ТБМК). В свою очередь, вошедшая в клиническую практику позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), с применением 18F-фтордезоксиглюкозы зарекомендовала себя как высокочувствительный метод обнаружения поражения костного мозга у больных ЛХ в сравнении с ТБМК [6–10].

Однако у данного метода есть целый ряд лимитирующих факторов: стоимость, возможность проведения исследования в ограниченном числе центров. Недостатком же иммуногистохимического (ИГХ) исследования поражения костного мозга по данным трепанобиопсии является то, что исследуется только небольшой участок мозга, однако его поражение при ЛХ чаще имеет фокальный характер. Таким образом, по-прежнему существует необходимость поиска адекватных предикторов ответа на лечение, которые еще на доклиническом этапе позволят предсказать эффект от дальнейшей химиотерапии и выявить как больных группы неблагоприятного прогноза, так и пациентов, для которых нет необходимости в эскалации доз химиотерапевтических препаратов. Альтернативным

методом может стать иммуноморфологическое исследование аспирата костного мозга посредством проточной цитометрии.

Методы проточной цитометрии введены в рутинную диагностику резидуального рака в случае опухолей кровяной системы (лимфобластные лейкозы, ряд лимфом). Являясь полезным диагностическим инструментом, данный подход предоставляет возможность изучения клеточных популяций костного мозга в качественном и количественном эквиваленте [11, 12].

Существенный вклад в решение проблемы изучения костного мозга при ЛХ внесли результаты исследований J.R. Fromm и соавт. [13–16], которые разработали методы выявления единичных клеток БРШ посредством проточной цитометрии. Данные методы могут быть легко применены для выявления единичных клеток БРШ в костном мозге пациентов с диагнозом ЛХ [17, 18]. В нашем недавнем исследовании апробирован метод иммунологической детекции клеток БРШ с применением многопараметровой проточной цитометрии [19, 20].

Цель исследования — изучить иммуноморфологические особенности костного мозга при ЛХ и оценить возможности метода проточной цитометрии в исследовании поражения костного мозга при КЛХ.

Материалы и методы

Мы проанализировали 107 образцов пунктатов костного мозга больных (50 мужчин и 57 женщин) различными вариантами КЛХ, получавших диагностику и лечение на базе клинического госпиталя «Лапино» и МНИОИ им. П.А. Герцена за период с 2018 по 2022 г. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Для отработки методики апробирован метод проточной цитометрии для выявления клеток БРШ в ткани лимфатических узлов. В исследование включен биопсийный материал лимфатических узлов 8 пациентов с подтвержденным диагнозом КЛХ и 3 пациентов с подозрением на лимфому [20].

По данным инструментальных методов исследования и опросников пациентов в соответствии с международными системами стадирования Cotswald и Ann Arbor в исследуемой когорте выделены следующие группы: 3 (2,8 %) пациента с I стадией заболевания, 55 (51,4 %) — с II стадией, 15 (14,0 %) — с III стадией, 34 (31,8 %) — с IV стадией. Таким образом, наибольшее число исследуемых пациентов имели II или IV стадию. Все пациенты с I стадией — мужчины, среди пациентов со II стадией достоверно преобладали женщины ($p = 0,035$), а среди пациентов с III и IV стадиями — мужчины ($p < 0,05$).

У всех пациентов на диагностическом этапе проведено морфологическое исследование и у большинства (67 %) — ИГХ-исследование биоптата опухоли. При ИГХ-исследовании оценена мембранная/цитоплазматическая экспрессия маркеров с применением

широкой панели моноклональных антител к антигенам CD15, CD30, CD3, CD45, CD20, Pax-5, у части пациентов исследована экспрессия белков вируса Эпштейна—Барр. Применение такой панели дало возможность не только оценить опухоль и выявить клетки БРШ, но и охарактеризовать Т- и В-клеточное микроокружение.

По данным гистологического и ИГХ-исследований всем пациентам поставлен диагноз КЛХ с преобладанием варианта нодулярный склероз (93 (86,9 %) из 107), у 3 (2,8 %) пациентов определено лимфоидное истощение и у 11 (10,3 %) — смешанно-клеточный вариант КЛХ.

Для оценки поражения костного мозга всем пациентам выполнена ТБКМ с морфологическим и/или ИГХ-исследованием, большинству (70 (65,4 %) из 107) на диагностическом этапе выполнена ПЭТ/КТ. Для оценки метаболического ответа выполнена контрольная ПЭТ/КТ по завершении курса специфической терапии. На диагностическом этапе 63 (58,8 %) пациентам в целях дифференциальной диагностики выполнена аспирационная биопсия костного мозга с морфологическим исследованием клеточного состава [21]. Аспират костного мозга во всех случаях исследован иммунологически с применением метода многоцветной (6-параметровой) проточной цитометрии.

В результате детально изучен популяционный состав лимфоцитов костного мозга. Определялось число зрелых Т- и В-клеток и НК-клеток на основании экспрессии среди лимфоцитов (CD45⁺-клетки) антигенов CD3 (Т-клетки), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-супрессоры), популяций CD19⁺CD20⁺ (зрелые В-клетки) и CD3-CD16⁺CD56⁺ (эффektorные НК-клетки).

Анализ количества популяций лимфоцитов костного мозга проводили методом проточной цитометрии на 2-лазерном 6-параметровом проточном цитометре Facs Canto II (Becton Dickinson, США). Последующую обработку данных проточной цитометрии осуществляли с применением программного обеспечения FSC 3.0.

Полученные данные обрабатывали с применением программы IBM SPSS 2023 для Windows. Статистическую обработку осуществляли с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни, отражающего достоверность различий между анализируемыми группами, при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

По ранее описанной и апробированной методике на диагностическом этапе у всех пациентов выполнена проточно-цитометрическая детекция клеток БРШ в образцах костного мозга (рис. 1) [22]. Иммунологические данные сопоставлены в группах с поражением костного мозга, выявленным в дебюте болезни на основании данных ПЭТ/КТ и ТБКМ, и без такового. Анализ показал высокую достоверность различий в количестве иммунологически выявленных БРШ (табл. 1).

В группе без поражения костного мозга, по данным ТБКМ, медиана содержания клеток БРШ составила

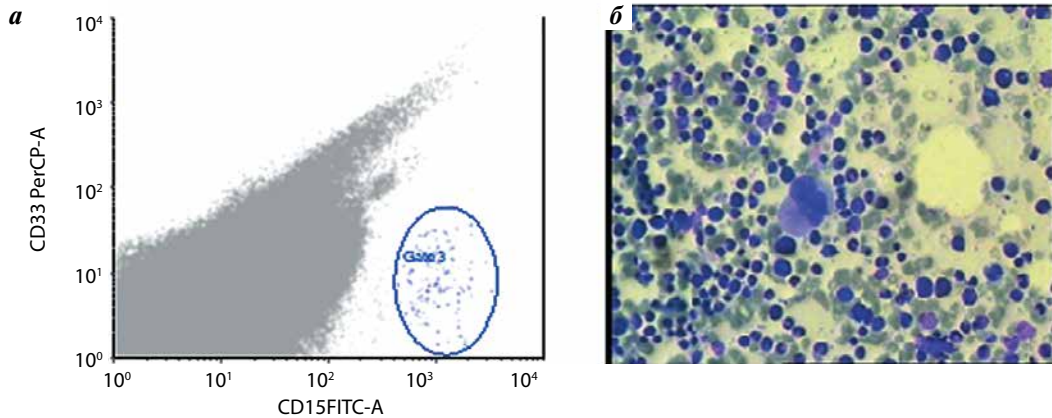


Рис. 1. Результаты трепанобиопсии костного мозга при подтвержденном диагнозе: а – цитограмма, подтверждающая присутствие значительного количества клеток Березовского–Рид–Штернберга в аспирационном пунктате костного мозга (203 клетки), выявленных методом проточной цитометрии при анализе 10 млн миелокариоцитов; б – результаты морфологического исследования трепанобиопсии костного мозга, подтверждающие поражение костного мозга, $\times 400$ (в центре – крупная клетка Березовского–Рид–Штернберга на фоне гетерогенного клеточного микроокружения)

Fig. 1. Results of bone marrow trephine biopsy confirming the diagnosis: a – cytogram confirming the presence of a significant number of Berezovsky–Reed–Sternberg cells in a bone marrow aspiration specimen (203 cells), detected by flow cytometry during analysis of 10 million myelokaryocytes; б – results of morphological examination of bone marrow trephine biopsy confirming bone marrow involvement, $\times 400$ (in the center – a large Berezovsky–Reed–Sternberg cell with heterogeneous cellular microenvironment)

25 (0–103, среднее значение 49), а в группе с поражением костного мозга – 109 (103–340, среднее значение 188). В группе без поражения костного мозга по данным ПЭТ/КТ медиана содержания клеток БРШ составила 13 (0–215, среднее значение 30), при этом в 20 образцах из 21 содержание клеток менее 100. В группе с поражением костного мозга медиана составила 132 (95–340, среднее значение 189).

Оценка числа клеток БРШ в группах без поражения костного мозга позволила предположить пороговый уровень данных клеток как индикатор поражения костного мозга. Анализ показал, что результат ТБКМ

с вероятностью 100 % будет отрицательным при содержании в костном мозге < 90 клеток БРШ, выявленных методом проточной цитометрии, а результат ПЭТ/КТ – при содержании < 60 клеток.

Анализ популяционного состава лимфоцитов костного мозга показал наличие разнонаправленных изменений иммунологических показателей. Данные показатели сопоставлены с количеством соответствующих популяций доноров костного мозга (табл. 2).

При сопоставлении числа основных субпопуляций лимфоцитов костного мозга у больных КЛХ в сравнении с показателями контрольной группы установлены

Таблица 1. Частота выявления клеток с иммунофенотипом Березовского–Рид–Штернберга с фактом поражения костного мозга по данным трепанобиопсии костного мозга и позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией

Table 1. Detection frequency of cells with the Berezovsky–Reed–Sternberg immunophenotype with bone marrow involvement, established according to bone marrow trephine biopsy and positron emission tomography combined with computed tomography data

Группа Group	Число клеток Березовского–Рид–Штернберга $\pm$ стандартная ошибка Number of Reed–Berezovsky–Sternberg cells $\pm$ standard error	p
Трепанобиопсия костного мозга: Bone marrow trephine biopsy:		
с поражением костного мозга (n = 7) with bone marrow involvement (n = 7)	188 $\pm$ 40	0,0001
без поражения костного мозга (n = 44) without bone marrow involvement (n = 44)	49 $\pm$ 8	
Позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией: Positron emission tomography combined with computed tomography:		
с поражением костного мозга (n = 15) with bone marrow involvement (n = 15)	169 $\pm$ 50	0,045
без поражения костного мозга (n = 36) without bone marrow involvement (n = 36)	30 $\pm$ 10	

Таблица 2. Состав иммунокомпетентных клеток костного мозга в сравнении с референсными интервалами и данными доноров
Table 2. The composition of immunocompetent bone marrow cells in comparison with reference intervals and donor data

Показатель* Parameter*	Анализируемая группа (n = 44) Analyzed group (n = 44)			Группа сравнения (здоровые доноры, n = 15) Comparison group (healthy donors, n = 15)	
	Среднее значение ± стандартная ошибка Mean value ± standard error	Медиана (диапазон) Median (range)	p	Среднее значение Mean value	Диапазон Range
Т-клетки (CD3 ⁺) T-cells (CD3 ⁺)	75,0 ± 2,4	75,0 (40,0–98,0)	0,035	62,9 ± 1,6	53,4–70,4
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺) T-helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	20,3 ± 1,4	20,8 (1,6–41,0)	Нет данных No data	29,3 ± 1,3	20,4–39,6
Т-цитотоксические/супрессорные популяции (CD3 ⁺ CD8 ⁺) T-cytotoxic/suppressor populations (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	54,7 ± 3,02	49,0 (24,9–93,7)	0,0023	30,6 ± 2,3	20,0–38,1
В-клетки (CD19 ⁺ CD20 ⁺) B-cells (CD19 ⁺ CD20 ⁺)	6,4 ± 0,91	4,3 (0,25–20,3)	0,001	20,4 ± 1,5	15,0–29,9
НК-клетки CD3–CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK-cells CD3–CD16 ⁺ CD56 ⁺	11,2 ± 1,4	8,5 (0,0–36,0)	0,045	14,2 ± 2,2	12,8–21,0

*Показатели представлены в виде относительных значений (от уровня лимфоцитов).
*The parameters are presented as relative values (from the lymphocytes level).

отличия костномозгового иммунопоэза: достоверные снижение числа зрелых В-клеток (CD19⁺CD20⁺), более низкое содержание НК-клеток и более высокое содержание зрелых Т-клеток, повышение которых обусловлено большим числом CD8⁺ цитотоксических/супрессорных популяций. Взаимосвязи между числом изученных популяций лимфоцитов и числом клеток БРШ костного мозга при анализе всей группы не выявлено.

Заключение

Стандартом оценки поражения костного мозга при ЛХ является ИГХ-исследование образцов трепано-биоптата. Однако в последние годы оно вытесняется неинвазивной инструментальной методикой ПЭТ/КТ с ¹⁸F-фтордезоксиглюкозой, хорошо зарекомендовавшей себя при выявлении факта поражения костного мозга.

У обоих методов, несмотря на их объективность, есть недостатки. Так, при ТБКМ анализируется небольшой объем ткани костного мозга, что с учетом фокальности его поражения при ЛХ может привести к ложноотрицательным результатам. В случае с ПЭТ/КТ имеются технические сложности — не во всех центрах есть необходимое оборудование. Важно также, что при ПЭТ/КТ невозможно оценить гистологическую картину костного мозга. Наконец, для ЛХ типична особая картина костного мозга, а именно наличие фиброза, связанного с продукцией цитокинов клетками воспалительного фона (лимфоциты, гистиоциты, зрелые эозинофилы и плазматические клетки), то есть выра-

женный воспалительный фон, что может привести к ложноположительным результатам ПЭТ/КТ.

Таким образом, с учетом важности оценки факта поражения костного мозга при первичной диагностике ЛХ в целях стадирования болезни актуальна разработка более точных методов. Один из возможных вариантов — исследование аспирата костного мозга с использованием методов проточной цитометрии высокого разрешения. До недавнего времени их применение при КЛХ было ограничено в силу недостаточных технических возможностей. Однако с приходом в клиническую практику проточных цитометров нового поколения и детального изучения иммунофенотипических особенностей опухолевых клеток при КЛХ идентификация единичных клеток БРШ данным методом стала возможной.

Мы продемонстрировали высокую частоту присутствия клеток БРШ в костном мозге у пациентов с КЛХ и установили пороговые значения этого показателя, при которых данные ПЭТ/КТ и ТБКМ будут отрицательными. Дополнительно изучены особенности костномозгового микроокружения, которые, согласно результатам нашего исследования, не отличались у пациентов с КЛХ с поражением костного мозга и без него, но вместе с тем имели целый ряд особенностей в сравнении с донорской группой. Полученные данные закладывают основу для дальнейшего детального изучения костного мозга при ЛХ методом проточной цитометрии для выявления клинической значимости его минимального поражения, оцененного иммунологически.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Aggarwal P., Limaie F. Reed Sternberg Cells. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.
- Weiler-Sagie M., Kagna O., Dann E.J. et al. Characterizing bone marrow involvement in Hodgkin's lymphoma by FDG-PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014;41(6):1133–40. DOI: 10.1007/s00259-014-2706-x
- Azambuja D., Natkunam Y., Biasoli I. et al. Lack of association of tumor-associated macrophages with clinical outcome in patients with classical Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2012;23(3):736–42. DOI: 10.1093/annonc/mdr15
- Ferrarini I., Bernardelli A., Lovato E. et al. An updated portrait of monocyte-macrophages in classical Hodgkin lymphoma. *Front Oncol* 2023;13:1149616. DOI: 10.3389/fonc.2023.1149616
- Steidl C., Farinha P., Gascoyne R.D. Macrophages predict treatment outcome in Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2011;96(2):186–9. DOI: 10.3324/haematol.2010.033316
- Jitani A.K., Dutta S., Mandal P.K. et al. Utility of ¹⁸F-fluorodeoxyglucose PET-CT scan in detecting bone marrow involvement in lymphoma. *Indian J Med Res* 2021;154(5):691–8. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_1420_19
- Lakhwani S., Cabello-Garcia D., Allende-Riera A. et al. Bone marrow trephine biopsy in Hodgkin's lymphoma. Comparison with PET-CT scan in 65 patients. *Med Clin (Barc)* 2018;9(150):104–6. DOI: 10.1016/j.medcli.2017.06.060
- Mato A.R., Wierda W.G., Davids M.S. et al. Utility of positron emission tomography-computed tomography in patients with chronic lymphocytic leukemia following B-cell receptor pathway inhibitor therapy. *Haematologica* 2019;104(11):2258–64. DOI: 10.3324/haematol.2018.207068
- Tezol Ö., Sağcan F., Özcan P.P. et al. Bone marrow involvement in pediatric malignancies: a comparison study of Positron emission tomography-computed tomography and bone marrow biopsy. *J Pediatr* 2020;62(2):182–90. DOI: 10.24953/turkjped.2020.02.003
- Agostinelli C. How can we better predict treatment outcomes in classical Hodgkin's lymphoma? *Int J Hematol Oncol* 2017;6(3):65–8. DOI: 10.2217/ijh-2017-0010
- Гривцова Л.Ю., Мушкарina Т.Ю., Лунин В.В., Зейналова П.А. Проточная цитометрия при диагностике плазмноклеточных опухолей и оценке минимальной остаточной болезни. *Онкогематология* 2021;16(3):16–25. DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-3-16-25
Grivtsova L.Yu., Mushkarina T.Yu., Lunin V.V., Zeynalova P.A. Flow cytometry in the diagnosis of plasma cell tumors and assessment of minimal residual disease. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2021;16(3):16–25. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-3-16-25
- Гривцова Л.Ю., Лунин В.В., Семенова А.А. и др. Минимальная остаточная болезнь при плазмноклеточной (множественной) миеломе: проточно-цитометрические подходы. *Онкогематология* 2020;15(1):40–50. DOI: 10.17650/1818-8346-2020-15-1-40-50
Grivtsova L.Yu., Lunin V.V., Semenova A.A. et al. Minimal residual disease in plasma cell (multiple) myeloma: flow cytometric approaches. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2020;15(1):40–50. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2020-15-1-40-50
- Fromm J.R., Wood B.L. A six-color flow cytometry assay for immunophenotyping classical Hodgkin lymphoma in lymph nodes. *Am J Clin Pathol* 2014;141(3):388–96. DOI: 10.1007/s00277-012-1608-x
- Fromm J.R., Thomas A., Wood B.L. Characterization and purification of neoplastic cells of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma from lymph nodes by flow cytometry and flow cytometric cell sorting. *Am J Pathol* 2017;187(2):304–17. DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.10.007
- Fromm J.R., Thomas A., Wood B.L. Flow cytometry can diagnose classical Hodgkin lymphoma in lymph nodes with high sensitivity and specificity. *Am J Clin Pathol* 2009;131(3):322–32. DOI: 10.1309/AJCPW3UN9DYLDSPB
- Fromm J.R., Kussick S.J., Wood B.L. Identification and purification of classical Hodgkin cells from lymph nodes by flow cytometry and flow cytometric cell sorting. *Am J Clin Pathol* 2006;126(5):764–80. DOI: 10.1309/7371-XK6F-6P74-74XX
- Grewal R.K., Chetty M., Abayomi E.A. et al. Use of flow cytometry in the phenotypic diagnosis of Hodgkin's lymphoma. *Cytometry B Clin Cytom* 2019;96(2):116–27. DOI: 10.1002/cyto.b.21724
- Wu D., Wood B.L., Fromm J.R. Flow cytometry for non-Hodgkin and classical Hodgkin lymphoma. *Methods Mol Biol* 2013;971:27–47. DOI: 10.1007/978-1-62703-269-8_2
- Аббасбейли Ф.М., Феденко А.А., Зейналова П.А. и др. Клинические возможности проточной цитометрии при лимфоме Ходжкина. *Онкогематология* 2023;18(3):70–7. DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-70-77
Abbasbeyli F.M., Fedenko A.A., Zeynalova P.A. et al. Clinical possibilities of flow cytometry in Hodgkin's lymphoma. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2023;18(3):70–7. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-70-77
- Гривцова Л.Ю., Мельникова А.А., Мушкарina Т.Ю. и др. Способ выявления клеток Березовского–Рид–Штернберга в лимфатических узлах пациентов с классической лимфомой Ходжкина методом 11-параметровой проточной цитометрии высокого разрешения. Патент RU 2 818 081 C2, 24.04.2024. Заявка № 2023122175 от 25.08.2023.
Grivtsova L.Yu., Melnikova A.A., Mushkarina T.Yu. et al. Method for detecting Berezovsky–Reed–Sternberg cells in lymph nodes of patients with classical Hodgkin's lymphoma by high-resolution 11-parameter flow cytometry. Patent RU 2 818 081 C2, 24.04.2024. Application No. 2023122175 dated 25.08.2023 (In Russ.).
- Аббасбейли Ф.М., Зейналова П.А., Вернюк М.А. и др. Особенности состава костного мозга и возможности диагностики опухолевого поражения у пациентов с классической лимфомой Ходжкина. *Онкогематология* 2023;18(3):84–91. DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-84-91
Abbasbeyli F.M., Zeynalova P.A., Vermyuk M.A. et al. Bone marrow composition features and possibilities of tumor involvement diagnosing in patients with classic Hodgkin's lymphoma. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2023;18(3):84–91. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-84-91
- Аббасбейли Ф.М., Феденко А.А., Зейналова П.А. и др. Выявление клеток Березовского–Рид–Штернберга в лимфатических узлах при классической лимфоме Ходжкина методом проточной цитометрии: серия клинических наблюдений. *Альманах клинической медицины* 2023;51(2):134–42. DOI: 10.18786/2072-0505-2023-51-015
Abbasbeyli F.M., Fedenko A.A., Zeynalova P.A. et al. Identification of Reed–Berezovsky–Sternberg cells in lymphatic nodes in classic Hodgkin's lymphoma by flow cytometry: a clinical case series. *Almanac of Clinical Medicine* 2023;51(2):134–42. (In Russ.). DOI: 10.18786/2072-0505-2023-51-015

Вклад авторов

А.А. Мельникова: выполнение преаналитического этапа работы, анализ данных проточной цитометрии;
 Ф.М. Аббасбейли: анализ клинических данных, написание текста статьи;
 Т.Ю. Мушкарина: выполнение проточно-цитометрических исследований;
 М.А. Вернюк: анализ клинических данных;
 П.А. Зейналова: общее руководство исследованием, редактирование статьи;
 Л.Ю. Гривцова: разработка дизайна исследования, анализ данных проточной цитометрии, общее руководство исследованием;
 С.А. Иванов: разработка концепции исследования;
 А.Д. Каприн: разработка концепции исследования, общее руководство исследованием.

Authors' contributions

A.A. Melnikova: preanalytical stage, analysis of flow cytometry data;
 F.M. Abbasbeyli: analysis of clinical data, article writing;
 T.Yu. Mushkarina: flow cytometric studies;
 M.A. Vernyuk: analysis of clinical data;
 P.A. Zeynalova: general study management, article editing;
 L.Yu. Grivtsova: study design development, analysis of flow cytometry data, general study management;
 S.A. Ivanov: study concept development;
 A.D. Kaprin: study concept development, general study management.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Мельникова / A.A. Melnikova: <https://orcid.org/0000-0001-7229-2813>
 Ф.М. Аббасбейли / F.M. Abbasbeyli: <https://orcid.org/0000-0002-2359-0547>
 Т.Ю. Мушкарина / T.Yu. Mushkarina: <https://orcid.org/0000-0002-1266-1792>
 М.А. Вернюк / M.A. Vernyuk: <https://orcid.org/0000-0003-1497-2436>
 П.А. Зейналова / P.A. Zeynalova: <https://orcid.org/0000-0003-1564-424X>
 Л.Ю. Гривцова / L.Yu. Grivtsova: <https://orcid.org/0000-0001-9103-9688>
 С.А. Иванов / S.A. Ivanov: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>
 А.Д. Каприн / A.D. Kaprin: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

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 Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России.

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 A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia.

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