

Целью нашего исследования было изучение уровня сывороточных цитокинов как биомаркеров, позволяющих прогнозировать ответ на терапию ИКТ.

Материалы и методы

В исследование были включены 80 пациентов с резистентной/рецидивирующей лимфомой Ходжкина, проходивших лечение на базе НИИ ДОГиТ им. Р. М. Горбачевой, получивших в качестве терапии PD-1 ингибитор (Ниволумаб) в дозе 3 мг/кг. Медиана возраста пациентов – 32 года, 55% составили мужчины (n=44), 45% – женщины (n=36), медиана наблюдения составила 32 мес. Общая выживаемость (ОВ) составила 96,3%, 2-летняя выживаемость без прогрессирования (БПВ) – 40% (медиана – 18,8 мес.). В рамках исследования до начала терапии, через 1,5 мес., 3 мес., 6 и 12 мес. забирали образцы сыворотки крови для последующего анализа. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определялась концентрация интерлейкина-6 (ИЛ-6) у 80 пациентов, интерлейкина-15 (ИЛ-15) у 30 больных и PDL-1 – в 42 случаях. Проводился ретроспективный анализ результатов лечения в зависимости от уровня цитокинов в исследуемых точках.

Результаты

Средний уровень ИЛ-6 перед началом терапии составлял 7,23 пг/мл, ИЛ-15 – 16,23 пг/мл, и PDL-1 – 9,98 пг/мл. С помощью регрессии Кокса выявлена статистически значимая взаимосвязь между показателями 2-летней выживаемости без прогрессирования (БПВ) и значениями ИЛ-15 (p=0,018) и ИЛ-6 (p=0,009) до терапии, ИЛ-6

через 1,5 мес. после нее (p=0,008), через 3 мес. (p=0,003), через 6 мес. (p=0,004). Выявлена положительная корреляция между ИЛ-6 и PDL-1 в точках до начала лечения (p=0,001), через 1,5 мес. (p=0,023) и через 6 мес. (p=0,011). Значения всех исследуемых цитокинов достоверно снизились через 6 мес. на фоне терапии (p<0,05). При помощи U-критерия была выявлена взаимосвязь уровня ИЛ-6 с наличием В-симптомов до начала терапии ниволумабом (p=0,004). С помощью ROC-анализа был определен граничный порог (cut-off value) для ИЛ-6 до терапии (2,5 пг/мл; AUC=0,589). При значении ИЛ-6 до терапии больше 2,5 пг/мл уменьшается 2-летняя БПВ (22,7 % против 50%). Медианы длительности БПВ составили 12,77 против 23,17 мес., p=0,049).

Выводы

В исследуемой популяции пациентов, уровень ИЛ-6 у пациентов с рефрактерной и рецидивирующей лимфомой Ходжкина до терапии ниволумабом обладал прогностической значимостью для 2-летней выживаемости без прогрессирования (БПВ). Несмотря на ограниченное количество наблюдений, уровень ИЛ-15 до начала терапии также значимо коррелировал с БПВ (p=0,018). Исследование уровня PDL-1 не показало какой-либо статистической значимости в нашем исследовании.

Ключевые слова

Лимфома Ходжкина, ниволумаб, иммуноферментный анализ, интерлейкин-6, интерлейкин-15, PDL-1.

The relationship of cytometric abnormalities and cytogenetic aberrancies in patients with myelodysplastic syndromes

Yulia O. Davydova, Irina V. Galtseva, Elena N. Parovichnikova, Alina V. Kohno, Nikolay M. Kapranov, Ksenia A. Nikiforova, Tatiana N. Obukhova, Valentina N. Dvirnykh, Alla M. Kovrigina, Vera V. Troitskaya, Elena A. Mikhailova, Tatiana N. Moiseeva, Larisa A. Kuzmina, Elena A. Lukina, Valery G. Savchenko

National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

Contact: Dr. Yulia O. Davydova

E-mail: davydova.y@blood.ru, juliya89mur@yandex.ru

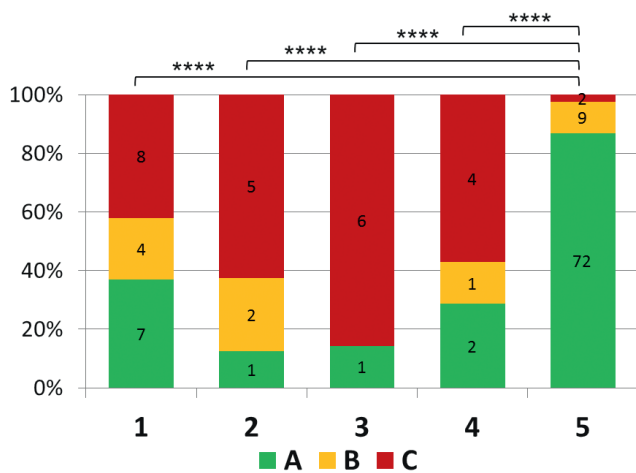
Introduction

Diagnosis of myelodysplastic syndromes (MDS) could be a challenge, especially in the absence of obvious morphological features of MDS such as excess of blasts and ring sideroblasts ($\geq 15\%$). Therefore, it is recommended to carry out cytogenetic, histological and multicolor flow cytometric (MFC) studies of bone marrow (BM). However, there is not enough data on the relationship of cytogenetic aberrations (CGA) and cytometric abnormalities. Our aim was to evaluate sensitivity and specificity of MFC in the MDS without excess of blasts and ring sideroblasts and to study the MFC abnormalities depending on the CGA.

Patients and methods

The study included 41 MDS patients (M/F ratio of 1:1.9; median age, 62 years): 8 MDS cases with 5q-, 4 – MDS with

single lineage dysplasia; 29 had MDS with multilineage dysplasia. Of these, there were 19 patients without CGA; 8, with isolated del(5q); 7, with recurrent typical abnormalities (-7/del(7q), del(13q), t(1; 3), or del(5q) in complex karyotype), and 7 showed non-specific aberrancies (-Y, t(2; 3), del(20q), +8). The control group included 83 patients with cytopenia (aplastic anemias, PNH, iron-deficient anemias, immune thrombocytopenias etc.). MFC examination of BM was performed according to European Leukemia Net recommendations on BD FACSCanto II. The reference values were obtained from BM data of 35 healthy donors. The final conclusion was made in accordance with the integrated flow cytometric scale (iFCS), i.e.: A, no signs of MDS; B, some signs of MDS; C, corresponds to MDS.



Axis "X":

- 1 - MDS w/o cytogenetic aberrancies,
- 2 - MDS with 5q-,
- 3 - MDS with typical aberrancies,
- 4 - MDS with nonspecific aberrancies,
- 5 - not MDS

Figure 1. Distribution of "ABC" scores according to an integrated flow cytometry scale

Results

The frequencies of B and C were higher in all MDS compared with control group, but there were no significant differences depending on CGA (Fig. 1). The sensitivity and specificity of MFC were 73.2% and 86.7%, respectively. In compartment of

early precursors proportions of CD34+ and CD117+ myeloid cells were higher in MDS with typical CGA than in control group. The normal proportion of CD34+ B-cell precursors was preserved in MDS without CGA and with non-specific chromosomal aberrancies. The proportion of CD7+CD34+ was higher in MDS with typical CGA and in MDS with 5q- compared to controls, and in MDS with 5q- compared to MDS without CGA.

The smallest proportion of granulocytes was observed in MDS with typical GCA. The lower granularity index and increased proportion of CD10+ granulocytes, were more typical for MDS with 5q-. Abnormal maturation patterns and high expression of CD56 in granulocytes were more intrinsic for MDS with typical GCA (Table 1). There were no differences in the monocytes.

Conclusion

Even with MDS free of obvious morphological signs of MDS, MFC retains a fairly high sensitivity, regardless of CGA. MDS with 5q- was characterized by a low number of CD34+ B-cell precursors, a high proportion of CD7+ and CD117+ cells and a low granularity index. MDS with typical CGA was characterized by high proportion of CD34+ and CD117+ cells, a low proportion of granulocytes with pronounced abnormal cytometric abnormalities. This indicates that there is probably a relationship between the CGA and the MFC dysplastic features.

Keywords

Myelodysplastic syndrome, cytogenetic aberrancies, flow cytometry, dysplasia assessment.

Table 1. Cytometric parameters evaluated in myelodysplastic syndromes (MDS) patients depending on cytogenetic aberrancies

Mediane values for the quantitative parameters	MDS w/o cytogenetic aberrancies, n=19	MDS with 5q-, n=8	MDS with typical aberrations, n=7	MDS with nonspecific aberrations, n=7	non-MDS, n=83
PRECURSORS					
% CD34+ myeloid cells	0.87	1.345	2.21*	0.99	0.89
% CD34+ B-cell precursors	2.4	0.45*	0.1*	1.6	9.4
Ratio CD45	6.385	5.575	6.75	5.69	6.64
% CD7+ out of CD34+ myeloid cells	11.65	25.5*	21.2*	18	7.45
% CD56+ out of CD34+ myeloid cells	1.1	0.2	1.5	0.1	0.6
% CD117+ out of CD34+ myeloid cells	76.65	90.4*	90.4	77	83.2
% CD117+ out of CD45+ cells	2.465	2.5	11.62*	5.15	3.675
GRANULOCYTES					
% granulocytes	63.1	57.35	42.1*	63.6	65.3
granularity index for granulocytes	7.38	5.04*	6.02*	7.02	7.69
% CD56+ granulocytes	7.7	1.05	12.9*	1.5	1.2
% CD10+ granulocytes	23.8	47.8*	20.7	17.4	22.4
abnormal pattern "CD13 vs CD16"	26.3	42.9	71.4*	42.9	15.7
abnormal pattern "CD13 vs CD11b"	31.6	0.0	57.1*	57.1*	16.9
abnormal pattern "CD16 vs CD11b"	21.1	14.3	71.4*	28.6	13.3

Взаимосвязь цитометрических аномалий и цитогенетических aberrаций у пациентов с миелодиспластическими синдромами

Юлия О. Давыдова, Ирина В. Гальцева, Елена Н. Паровичникова, Алина В. Кохно, Николай М. Капранов, Ксения А. Никифорова, Татьяна Н. Обухова, Валентина Н. Двирнык, Алла М. Ковригина, Вера В. Троицкая, Елена А. Михайлова, Татьяна Н. Моисеева, Лариса А. Кузьмина, Елена А. Лукина, Валерий Г. Савченко

Национальный медицинский исследовательский центр гематологии, Москва, Россия

Введение

Диагностика миелодиспластических синдромов (МДС) не редко вызывает трудности, особенно в отсутствии очевидных морфологических и цитохимических признаков МДС: избытка бластных клеток и кольцевых сидеробластов ($\geq 15\%$). Поэтому рекомендуется проведение цитогенетического анализа, гистологического исследования и иммунофенотипирование методом многоцветной проточной цитометрии (МПЦ). Однако нет достаточного количества данных о взаимосвязи цитогенетических aberrаций (ЦГА) и цитометрических аномалий. Целью исследования была оценка чувствительности и специфичности МПЦ в группе МДС без избытка бластных клеток и кольцевых сидеробластов, изучить особенности цитометрических аномалий у больных МДС в зависимости от ЦГА.

Пациенты и методы

В исследование включен 41 пациент с МДС (м:ж = 1:1,9, медиана возраста 62 года): 8 – с МДС с 5q-, 4 – МДС с однолинейной дисплазией, 29 – МДС с мультилинейной дисплазией. Из них без ЦГА было 19, только с $\text{del}(5q)$ (или еще с одной aberrацией за исключением $-7/\text{del}(7q)$) – 8, с типичными для МДС aberrациями ($-7/\text{del}(7q)$, $\text{del}(13q)$, $t(1;3)$ или $\text{del}(5q)$ в составе комплексного кариотипа) – 7, с неспецифическими aberrациями ($-Y$, $t(2;3)$, $\text{del}(20q)$, $+8$) – 7. Контрольная группа включала 83 пациента с цитопениями, но не с МДС (апластическая анемия, ПНГ, ИТП, ЖДА и др). Исследование костного мозга проведено на проточном цитометре BD FACS Canto II с соответствии с рекомендациями European LeukemiaNet. Для расчета нормальных значений цитометрических показателей исследовали костный мозг 35 здоровых доноров. Конечное заключение производилось в соответствии с объединенной цитометрической шкалой: А – нет признаков МДС; В – есть некоторые признаки МДС; С – соответствует МДС.

Результаты

Частоты оценок В и С по объединенной цитометрической шкале были выше во всех группах МДС по сравнению с контрольной группой, но значимых отличий в зависимости от ЦГА не было. Чувствительность и специфичность метода МПЦ в группе МДС без избытка бластов и кольцевых сидеробластов ($\geq 15\%$) составили 73,2% и 86,7%, соответственно. В компартменте ранних предшественников гемопоэза только при МДС с типичными aberrациями доля $\text{CD}34+$ и $\text{CD}117+$ миелоидных клеток от всех клеток была повышена по сравнению с контрольной группой. Нормальная доля $\text{CD}34+$ В-клеточных предшественников сохранялась преимущественно в группах МДС без ЦГА и с неспеци-

фическими aberrациями. Доля $\text{CD}7+\text{CD}34+$ клеток была выше в группах МДС с типичными aberrациями и 5q- по сравнению с контролем, а в группе МДС с 5q- по сравнению с МДС без ЦГА. Наименьшая доля гранулоцитов отмечалась при МДС с типичными aberrациями, а сниженный индекс гранулоцитов и повышенная доля $\text{CD}10+$ гранулоцитов больше характерны для МДС с 5q-. Аномальные паттерны созревания гранулоцитов и высокая экспрессия $\text{CD}56$ более характерны для МДС с типичными aberrациями по сравнению с контролем. Различий в компартменте моноцитов в группах пациентов не было.

Выводы

Метод МПЦ, даже при МДС без очевидных морфологических признаков, сохраняет достаточно высокую чувствительность, вне зависимости от ЦГА. Для МДС с 5q- характерны низкое количество $\text{CD}34+$ В-клеточных предшественников, высокая доля $\text{CD}7+$ и $\text{CD}117+$ клеток от $\text{CD}34+$ миелоидных клеток и низкая гранулярность гранулоцитов. Для МДС с типичными aberrациями характерна высокая доля $\text{CD}34+$ миелоидных и $\text{CD}117+$ клеток, низкая доля гранулоцитов с выраженными аномальными цитометрическими признаками. Это указывает на то, что, вероятно, существует взаимосвязь между ЦГА и цитометрическими признаками дисмиелопоэза.

Ключевые слова

Миелодиспластические синдромы, цитогенетические aberrации, проточная цитометрия, оценка дисмиелопоэза.