

## ПОКАЗАТЕЛИ КОСТНОМОЗГОВОГО КРОВЕТВОРЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМ КЛИНИЧЕСКИМ ТЕЧЕНИЕМ ДИФФУЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ

Франциянц Е.М.<sup>1</sup>, Гуськова Н.К.<sup>1</sup>, Бандовкина В.А.<sup>1</sup>, Куштова Л.Б.<sup>2</sup>, Селютина О.Н.<sup>1</sup>, Николаева Н.В.<sup>1,2</sup>, Ноздричева А.С.<sup>1</sup>, Козель Ю.Ю.<sup>1</sup>, Дмитриева В.В.<sup>1,2</sup>, Козюк О.В.<sup>1</sup>, Капуза Е.А.<sup>1</sup>, Пушкарева Т.Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: kushtova\_l@mail.ru

Поражение костного мозга (КМ) встречается у 11–25% пациентов с диагнозом диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВКЛ). Несмотря на эффективность используемых в настоящее время режимов иммунополихимиотерапии, значительная часть пациентов подвержена возникновению рефрактерных и рецидивных форм заболевания. В связи с этим морфологическое исследование костного мозга сохраняет свою диагностическую и прогностическую значимость. Цель исследования: изучить состояние костномозгового кроветворения у больных с различным клиническим течением ДВКЛ. Проведено морфологическое исследование КМ с анализом миелограмм у 45 пациентов с ДВКЛ. В I группе больных (в состоянии ремиссии) костномозговой пунктат клеточный, полиморфный. Гранулоцитарный росток кроветворения без патологии, созревание клеток не нарушено. Эритроидный росток сохранен, нормобластический. Во II группе (с рецидивом заболевания) костный мозг мonomорфный, с увеличением числа лимфоцитов до 90%, 4% составляют бластные клетки. Гранулоцитарный и эритроцитарный ростки редуцированы, количество мегакариоцитов снижено. Изменения у пациентов III группы (с рефрактерной формой) имеют аналогичную, но более выраженную направленность: количество бластных клеток увеличено до 30%. Морфологическое исследование состояния костномозгового кроветворения полезно в оценке риска возникновения рецидивных и рефрактерных форм заболевания. Согласно полученным данным, более глубокие изменения в костном мозге отмечены у больных с рефрактерным течением ДВКЛ.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома, костный мозг, миелограмма, рефрактерные и рецидивные формы заболевания.

## INDICATORS OF BONE MARROW HEMATOPOIESIS IN PATIENTS WITH DIFFERENT CLINICAL COURSE OF DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

Frantsyants E.M.<sup>1</sup>, Guskova N.K.<sup>1</sup>, Bandovkina V.A.<sup>1</sup>, Kushtova L.B.<sup>2</sup>, Selyutina O.N.<sup>1</sup>, Nikolaeva N.V.<sup>1,2</sup>, Nozdrichyeva A.S.<sup>1</sup>, Kozel U.U.<sup>1</sup>, Dmitrieva V.V.<sup>1,2</sup>, Kozuk O.V.<sup>1</sup>, Kapuza E.A.<sup>1</sup>, Pushkareva T.F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>FGBU «National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don;

<sup>2</sup>FGBOU VO «Rostov State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, e-mail: kushtova\_l@mail.ru

Bone marrow involvement (BM) occurs in 11–25% of patients diagnosed with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). Despite the effectiveness of the currently used regimens of immunopolychemotherapy, a significant part of patients are susceptible to the occurrence of refractory and recurrent forms of the disease. In this regard, morphological examination of the bone marrow retains its diagnostic and prognostic significance. Purpose of the study. To study the state of bone marrow hematopoiesis in patients with different clinical course of DLBCL. A morphological study of BM with the analysis of myelograms was carried out in 45 patients with DLBCL. In group I patients (in remission), bone marrow punctate is cellular, polymorphic. Granulocytic hematopoiesis germ without pathology, cell maturation is not disturbed. The erythroid sprout is preserved, normoblastic. In group II (with a relapse of the disease), the bone marrow is monomorphic, with an increase in the number of lymphocytes up to 90%, 4% are blast cells. The granulocyte and erythrocyte germs are reduced, the number of megakaryocytes is reduced. Changes in patients of group III (with a refractory form) have a similar, but more pronounced direction: the number of blast cells is increased to 30%. Morphological examination of the state of bone marrow hematopoiesis is useful in assessing the risk of recurrent and refractory forms of the disease. According to the data obtained, deeper changes in the bone marrow were noted in patients with refractory DLBCL.

Keywords: diffuse large B-cell lymphoma, bone marrow, myelogram, refractory and recurrent forms of the disease.

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) – самая распространенная неходжкинская лимфома (НХЛ) во всем мире, составляющая около 30–35% всех НХЛ. ДВКЛ чаще встречается у мужчин, средний возраст на момент постановки диагноза составляет около 70 лет. Однако этот тип лимфомы также может возникнуть у молодых людей и детей. В настоящее время в Европе и США ежегодно диагностируется 3,13 и 5,6 новых случаев на 100 000 жителей в год соответственно [1, 2]. Заболеваемость ДВКЛ обычно увеличивается с возрастом. Выявлено много факторов риска развития ДВКЛ, таких как: семейный анамнез гематологических злокачественных новообразований, аутоиммунные заболевания, ВИЧ и вирус гепатита С, высокий индекс массы тела в молодом возрасте, а также воздействие определенных лекарств или химикатов на рабочем месте и/или в окружающей среде [3, 4].

ДВКЛ – разнородная группа лимфом с различными клиническими, морфологическими, иммуногистохимическими и молекулярно-генетическими особенностями [5]. У 11–25% пациентов встречается поражение костного мозга (КМ) [6].

Диффузная В-крупноклеточная лимфома – это агрессивное заболевание, и для нелеченых пациентов средняя выживаемость обычно составляет менее 1 года [7]. Режим СНОР (циклофосфамид, доксорубицин, винкристин и преднизолон) использовался более 40 лет, а препарат Ритуксимаб (CD20-направленное моноклональное антитело) был одобрен Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) в 2006 г. для использования в качестве комбинированного лечения пациентов с ДВКЛ вместе со СНОР. После этого режим R-СНОР стал стандартом лечения пациентов с недавно диагностированной ДВКЛ [8]. Таким образом, применение в течение последних 20 лет режимов химиотерапии с высокими дозами в сочетании с Ритуксимабом значительно улучшило результаты лечения пациентов с ДВКЛ в более чем 50% случаев, даже на поздних стадиях [9, 10]. Тем не менее около одной трети пациентов после лечения подвержены возникновению рефрактерных и рецидивных форм заболевания. Клинически остаточные опухолевые клетки, которые выживают после терапии, классифицируются как минимально-остаточное заболевание (МОБ). Методы, используемые для идентификации этих клеток, различаются в зависимости от доступности технологий и инвазивности клинической процедуры. При злокачественных гематологических заболеваниях костный мозг является наиболее изученной локализацией, где остаточные опухолевые клетки могут быть обнаружены с помощью минимально инвазивных методов. Следовательно, логично предположить, что резидентные стромальные клетки обеспечивают сигналы для опухолевых клеток, позволяя им выжить при цитотоксической терапии [11, 12]. Злокачественные опухоли и химиотерапия представляют собой своего рода стресс для костного мозга и, как и следовало

ожидать, оказывают глубокое влияние на состав и функции стромальных клеток костного мозга [13].

В настоящее время происходят непрерывный поиск прогностических маркеров неблагоприятного течения злокачественных процессов и подбор современного противоопухолевого лечения [14].

Раннее распознавание пациентов с плохим прогнозом очень важно для изучения альтернативных стратегий лечения первой линии. В целях диагностики и прогноза эффективности терапии могут быть использованы цитоморфологический, иммунофенотипический и молекулярный анализы. Однако исходя из особенностей лимфом, включенных в группу ДВКЛ, и доступности клинической процедуры морфологическое исследование костного мозга с анализом миелограмм сохраняет свою диагностическую и прогностическую значимость.

Целью настоящего исследования является изучение состояния костномозгового кроветворения у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой при ее различном клиническом течении.

**Материалы и методы исследования.** В исследование включены 45 пациентов, проходивших обследование и лечение в отделении онкогематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в период с 2016 по 2020 гг.

Критериями включения в исследование являлись: 1) морфологически подтвержденный диагноз диффузной В-крупноклеточной лимфомы; 2) возраст пациентов 18 лет и старше; 3) наличие подписанного пациентом информированного добровольного согласия.

Все больные в качестве первой линии терапии получали от 6 до 8 курсов полихимиотерапии по программе R-СНОР.

Ответ на лечение оценивали в соответствии с критериями Международной прогностической группы. В зависимости от ответа на проводимую специфическую терапию пациенты были распределены в 3 группы по 15 человек в каждой: I – пациенты, достигшие объективного ответа, т.е. в состоянии ремиссии, II – пациенты с рецидивом заболевания, III – пациенты с рефрактерной формой заболевания.

У 14 (31,1%) пациентов была установлена лейкемизация процесса: в I группе 1 больной, во II – 6, в III – 7.

Проведено комплексное обследование больных, в том числе морфологическое исследование костного мозга с анализом миелограмм (Bio Vision, Micros, Австрия) на этапах до и через 1 месяц после лечения, иммунофенотипирование (ИФТ) костного мозга методом многоцветной проточной цитофлюориметрии (Navios 10/3, Beckman Coulter, США) через 1 месяц после завершения лечения.

**Результаты исследования и их обсуждение.** По результатам анализа миелограмм пациентов до лечения данных о вовлечении костного мозга в патологический процесс не выявлено. Содержание лимфоцитов у всех пациентов не выходило за пределы референтного интервала.

После лечения данные морфологического исследования костного мозга пациентов I группы (ремиссия) свидетельствовали об отсутствии инфильтрации костного мозга лимфоидными и бластными элементами. Более того, в большей части наблюдений отмечалось восстановление кроветворной функции костного мозга.

По данным миелограмм костномозговой пунктат был клеточным, полиморфным по составу. Гранулоцитарный росток кроветворения без выраженных патологических изменений: пролиферация и созревание клеток внутри нейтрофильного ряда не нарушены. Эритроидный росток сохранен с нормобластическим типом кроветворения. Лейко-эритробластическое соотношение нарушено незначительно. Мегакариоцитарный росток представлен, функционально активен. Содержание лимфоцитов не превышало верхний референтный интервал (рис. 1, табл. 1).



*Рис. 1. Костный мозг. Ремиссия, ув. x1000*

Результаты морфологического исследования костного мозга у пациентов I группы, на наш взгляд, свидетельствуют о положительном ответе на проведенную терапию и более благоприятном течении заболевания.

У пациентов II группы (рецидивы) костномозговой пунктат гипоклеточный, мономорфный со значительным увеличением количества лимфоцитов до 90%, опухолевая

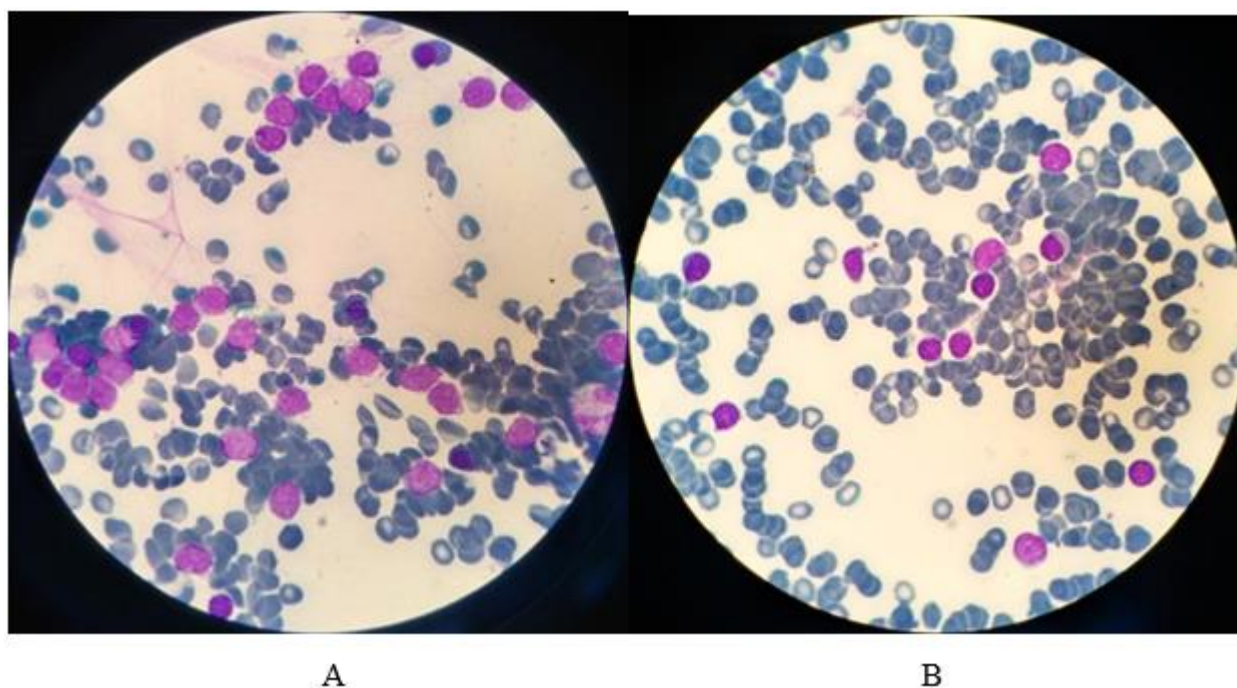
природа которых подтверждена при цитофлюориметрическом исследовании. Обнаружены бластные клетки до 4%. Гранулоцитарный и эритроидный ростки кроветворения редуцированы. Резко повышено лейко-эритробластическое соотношение. Количество мегакариоцитов снижено, однако встречались единичные функционально активные формы (рис. 2, табл. 1).

Таблица 1

Данные миелограмм больных ДВКЛ с различным клиническим течением

Показатель		Результаты в разных группах больных (%)			
		Норма (%)	I	II	III
Бластные клетки		0,1–1,1		3,4	20,0
Миелобласты		0,2–1,0	0,2		
Нейтрофилы	промиелоциты	1,0–4,1	0,8		
	миелоциты	7,0–12,2	11,8	0,4	
	метамиелоциты	8,0–15,0	8,8		2,0
	палочкоядерные	12,8–23,7	17,0	1,8	2,0
	сегментоядерные	13,1–24,1	27,8	0,6	2,0
	Всего клеток нейтр. ряда	52,7–68,9	66,2	2,8	6,0
Эозинофилы	миелоциты	0–1,0	0,2		
	метамиелоциты	0–1,2	0,2		
	палочкоядерные	0,1–1,2			
	сегментоядерные	0,4–2,4	0,6		
	Всего клеток эозин. ряда	0,5–5,8	1,0		
Базофилы		0,2–1,1	0,2	0,2	
Моноциты		0,7–3,1	4,0	0,2	3,0
Лимфоциты		4,3–13,7	13,4	89,0	66,2
Плазматические клетки		0,1–1,8	0,2	0,4	0,8
Ретикулярные клетки		0,1–1,6		0,4	1,0

Мегакариоциты		0,2–0,6	0,2		
Эритробласты		0,2–1,1	0,2		
Пронормоциты		0,1–1,2	1,0	0,2	
Нормоциты	базофильные	1,4–4,6	1,4	0,6	
	полихроматофильные	8,9–16,9	8,4	1,8	2,0
	оксифильные	0,8–5,6	3,6	1,0	1,0
Все клетки эритроидного ростка		14,5–26,5	14,6	3,6	3,0
Индекс созревания	эритрокариоцитов	0,7–0,9	0,82	0,8	1,0
	нейтрофилов	0,5–0,9	0,48	0,2	0,5
Лейко-эритробластическое отношение		2,1–4,5	5,8	26,8	32,3
Количество миелокариоцитов (тыс. в 1 мкл, $\times 10^9/\text{л}$ )		45,0–250,0	50,1	32,8	2,2
Количество мегакариоцитов (в 1 мкл, $\times 10^6/\text{л}$ )		50–150	20	20	не обн.



*Рис. 2. Костный мозг. Рецидив заболевания. А – лимфоциты;  
В – лимфоциты и бластные клетки, ув.  $\times 1000$*





специфическую терапию и тяжесть течения заболевания. Морфологическое исследование состояния костномозгового кроветворения у пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой может быть полезно в оценке риска возникновения рецидивных и рефрактерных форм заболевания.

### Список литературы

1. Howell D., Patmore R., Jack A., Roman E. Incidence of haematological malignancy by subtype: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *British journal of cancer*. 2011. V. 105. № 11. P. 1684-1692.
2. Menon M.P., Pittaluga S., Jaffe E.S. The histological and biological spectrum of diffuse large B-cell lymphoma in the WHO classification. *Cancer journal (Sudbury, Mass.)*. 2012. V. 18. № 5. P. 411.
3. Tilly H., Gomes da Silva M., Vitolo U., Jack A., Meignan M., Lopez-Guillermo A., Walewski J., André M., Johnson P.W., Pfreundschuh M., Ladetto M. and ESMO Guidelines Committee. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology*. 2015. V. 26. P. v116-v125.
4. Chihara D., Nastoupil L.J., Williams J.N., Lee P., Koff J.L., Flowers C.R. New insights into the epidemiology of non-Hodgkin lymphoma and implications for therapy. *Expert review of anticancer therapy*. 2015. V. 15. № 5. P. 531-544.
5. Chigrinova E., Mian M., Scandurra M., Greiner T.C., Chan W.C., Vose J.M., Inghirami G., Chiappella A., Baldini L., Ponzoni M. Diffuse large B-cell lymphoma with concordant bone marrow involvement has peculiar genomic profile and poor clinical outcome. *Hematological oncology*. 2011. V. 29. № 1. P. 38-41. DOI: 10.1002/hon.953.
6. Sehn L.H., Scott D.W., Chhanabhai M., Berry B., Ruskova A., Berkahn L., Connors J.M., Gascoyne R.D. Impact of concordant and discordant bone marrow involvement on outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *J. Clin. Oncol.* 2011. V. 29. № 11. P. 1452-1457. DOI: 10.1200/JCO.2010.33.3419.
7. Flowers C.R., Sinha R., Vose J. M. Improving outcomes for patients with diffuse large B-cell lymphoma. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2010. V. 60. № 6. P. 393-408.
8. Miao Y., Li Y., Li J., Young K.H. Genetic alterations and their clinical implications in DLBCL. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2019. V. 16. № 10. P. 634-652.
9. Armitage J.O., Gascoyne R.D., Lunning M.A., Cavalli F. Non-hodgkin lymphoma. *The Lancet*. 2017. V. 390. № 10091. P. 298-310.



10. Galaznik A., Huelin R., Stokes M., Guo Y., Hoog M., Bhagnani T., Bell J., Shou Y. Systematic review of therapy used in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma. *Future science OA*. 2018. V. 4. № 07. С. FSO322.
11. Mangolini M., Ringshausen I. Bone marrow stromal cells drive key hallmarks of B cell malignancies. *International journal of molecular sciences*. 2020. V. 21. № 4. P. 1466.
12. Гуськова Н.К., Селютин О.Н., Новикова И.А., Максимов А.Ю., Ноздричева А.С., Абакумова С.В. Морфологические и иммунофенотипические особенности моноклональной популяции В-лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе // *Южно-Российский онкологический журнал*. 2020. Т. 1. № 3. С. 27-35.
13. Tikhonova A.N., Dolgalev I., Hu H., Sivaraj K.K., Hoxha E., Cuesta-Domínguez Á., Pinho S., Akhmetzyanova I., Gao J., Witkowski M. The bone marrow microenvironment at single-cell resolution. *Nature*. 2019. V. 569. № 7755. P. 222-228.
14. Кит О.И., Франциянц Е.М., Никипелова Е.А., Комарова Е.Ф., Козлова Л.С., Таварян И.С., Аверкин М.А., Черярина Н.Д. Изменения маркеров пролиферации, неоангиогенеза и системы активации плазминогена в ткани рака прямой кишки // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015. № 2 (114). С. 40-45.