

КЛИНИКО-ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСФУЗИЙ ТРОМБОКОНЦЕНТРАТА БОЛЬНЫМ ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Даваасамбуу Б¹., Грицаев С.В. ², Глазанова Т.В. ², Кострома И.И.², Потихонова Н.А. ²,
Мартынкевич И.С. ², Колосков А.В. ¹, Чечеткин А.В. ²

¹ГБОУ ВПО “Северо-Западный государственный медицинский Университет им. И.И. Мечникова” Минздрав России, Санкт-Петербург. ²ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург

Даваасамбуу Булган, аспирант кафедры трансфузиологии ГБОУ ВПО “Северо-Западный государственный медицинский Университет им. И.И. Мечникова” Минздрав России

Адрес: 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, дом 41.

Телефон: (812) 717- 54-68

E-mail: bulgan.davaasambu@mail.ru

Резюме

Эффективность трансфузий тромбоцитного концентрата зависит от многих факторов иммунной и неиммунной природы.

Цель данного исследования – выявить сопряженность клинико-гематологических показателей с рефрактерностью к трансфузиям у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) при индукционной (ИР) и высокодозной (ВДХТ) химиотерапии.

Проанализированы данные 41 больного при проведении ИР и 58 больных при проведении ВДХТ. Эффективность трансфузий оценивали по скорректированному показателю прироста тромбоцитов через 24 час.

Выявлено, что у больных ОМЛ эффективность трансфузий тромбоконцентрата зависит от морфологической природы лейкозных клеток и варианта ELN прогноза. Так при ИР рефрактерность к трансфузиям чаще наблюдалась у больных с моноцитарной природой бластных клеток ($r=0,337$; $p=0,031$). В случае проведения ВДХТ эффективность трансфузий зависит от активности лейкозного процесса ($r=0,267$; $p=0,042$) и прогностического варианта ($r=0,263$; $p=0,045$).

Полученные данные расширяют спектр факторов неиммунной природы, ассоциированных с рефрактерностью к трансфузиям тромбоконцентрата, и позволяют

прогнозировать объем гемокомпонентной терапии в зависимости от этапа лечения, активности ОМЛ и прогностического варианта.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, индукционная терапия, высокодозная химиотерапия, трансфузии тромбоконцентрата, классификация FAB, классификация ВОЗ, вариант прогноза ELN

Clinico-hematological parameters and effectiveness of platelets transfusions in patients with acute myeloid leukemia

Davaasambuu B.¹, Gritsaev S.V.², Glazanova T.V.², Kostroma I.I.², Potichonova N.A.², Martinkevitch I.S.², Koloskov A.V., Chechetkin A.V.²

¹SBIHE “Nord-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov” under the Ministry of Public Health and Social Affairs of Russian Federation, St.Petersburg

²FSBI “Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of FMBA Russia”. St.Petersburg

Abstract.

The effectiveness of platelets transfusions is dependent from many different parameters of immune and nonimmune factors.

The aim of the study is to evaluate the association between some of clinic-hematological parameters and platelets transfusions' refractoriness during induction (IR) and high dose chemotherapy (HDCh) in patients with acute myeloid leukemia (AML).

The data of 41 patients during IR and 58 patients during HDCh were analyzed. To determine the effectiveness of platelets effectiveness the corrected count increment of transfused platelets was used.

It was revealed that the effectiveness of platelets transfusions are dependent on morphological nature of blasts and prognostic ELN variants. Refractoriness to platelets transfusions is more often event in patients with monocytic nature of bone marrow blasts during IR ($r=0.337$; $p=0.031$). Opposite situation is during HDCh as the effectiveness is dependent on ELN variant ($r=0.263$; $p=0.045$).

These data demonstrated that the number of nonimmune factors may be increased by new additional factors and morphological nature of bone marrow blasts and ELN cytogenetic variants are predictors of effectiveness of platelets transfusions in patients with AML.

Key words: acute myeloid leukemia, induction chemotherapy, high-dose chemotherapy, platelets transfusions, FAB classification, WHO classification, ELN prognostic system.

Лечение больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) осуществляется в несколько этапов. На этапе индукции ремиссии осуществляется максимальная редукция лейкозной массы с целью достижения морфологической ремиссии, когда количество бластных клеток в костномозговом пунктате составляет менее 5%. При достижении ответа или в случае неэффективности индукционных курсов проводятся курсы химиотерапии (ХТ) с введением цитостатиков в дозах во много раз превышающих стандартные [1]. Несмотря на принципиальную роль интенсивности ХТ (полнота доз цитостатиков, соблюдение длительности курса и интервалов между введением препаратов), результаты лечения во многом определяются объемом и качеством сопроводительной терапии, которая позволяет сохранить жизнь больного во время проведения специальной терапии и в период постцитостатической аплазии костного мозга (КМ). Своевременная и адекватная сопроводительная терапия, которая подразумевает назначение противoinфекционных препаратов, парентерального питания, ростовых факторов и компонентов крови, способствует предупреждению и/или обеспечивает коррекцию токсических осложнений, тяжесть и длительность которых может значимо увеличить межкурсовой интервал и/или инвалидизировать больного и сделать невозможным эффективное проведение последующей ХТ в соответствии с намеченным протоколом.

Важным элементом сопроводительной терапии является трансфузия тромбоконцентрата, назначаемого с профилактической или лечебной целью. Тромбоконцентрат заготавливают двумя основными методами. Первый – центрифугирование 1 дозы цельной крови объемом 450 мл. Другой способ подразумевает использование сепаратора клеток крови, позволяющего обработать не менее 4-5 л крови от одного донора в режиме непрерывного потока [2-4].

В ряде случаев после трансфузии тромбоконцентрата не отмечается ожидаемого прироста тромбоцитов в периферической крови больного. Для обозначения данного состояния используется термин “рефрактерность” к тромбоцитному концентрату.

Развитие рефрактерности может быть опосредованно иммунными, неиммунными механизмами или их комбинацией.

Анализ данных литературы свидетельствует о преимущественной роли неиммунных механизмов в развитии рефрактерности к ТК у больных ОМЛ [4-6]. Распознавание неиммунных причин неэффективности трансфузий тромбоконцентрата является весьма актуальной проблемой из-за снижения частоты обнаружения анти-HLA-антител и необходимости предварительного планирования объема гемокомпонентной терапии.

Цель данного исследования – оценить значимость отдельных клинико-гематологических параметров как факторов, ассоциированных с эффективностью трансфузий тромбоконцентрата больным ОМЛ в период индукционной и высокодозной ХТ.

Материалы и методы.

Для диагностики ОМЛ были использованы критерии классификации ВОЗ [7]. Миелоидную природу бластных клеток устанавливали по результатам цитохимических реакций и иммунофенотипирования с помощью панели моноклональных антител к поверхностным и внутриклеточным дифференцировочным антигенам CD117, CD33, CD13, CD11c, CD9, CD14, CD64, CD15, CD16, CD56, MPO на проточном цитофлюориметре Cytomics FC 500 (“Beckman Coulter”, США).

Одновременно для формирования групп больных с однотипными морфологическими характеристиками бластных клеток (бласты миелоидной природы и бласты моноцитарной природы) была использована классификация FAB [8].

У всех больных, включенных в данное исследование, количество бластных клеток в КМ было не менее 20%.

Прогностический вариант ОМЛ устанавливали по критериям, предложенным European Leukemia Net (ELN) [9]. Из-за отсутствия у большинства больных данных о мутационном статусе генов *FLT3* и *NPM1*, вариант определяли только по результатам стандартного цитогенетического исследования, в котором количество проанализированных метафаз было не менее 20. Все больные с нормальным кариотипом были включены в группу промежуточного риска.

До начала цитостатической терапии всеми больными было подписано информированное согласие.

Индукционная терапия (ИР) проводилась по схеме “7+3”: цитарабин (Ара-Ц) 100 мг/м² внутривенно 2 раза в сутки в течение 7 последовательных дней, даунорубицин 60 мг/м² или идарубицин 12 мг/м² внутривенно в течение первых трех последовательных дней. При

подозрении и/или в случае верификации острого промиелоцитарного лейкоза дополнительно назначалась АТРА в суточной дозе 45 мг/м².

Высокодозная ХТ (ВДХТ) проводилась больным, у которых была достигнута полная ремиссия (ПР), а также больным без ответа на индукционную ХТ. Независимо от включения или не включения антрациклинов в состав курса, у всех больных доза разовая Ара-Ц была ≥ 1 г/м². Курсовая доза Ара-Ц составляла от 6 до 18 г/м².

Эффективность лечения оценивали по критериям Международной рабочей группы (IWG) [10].

Тяжесть токсических осложнений оценивали по критериям Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), версия 3.

Трансфузии тромбоконцентрата проводили по 2 показаниям. С профилактической целью при уровне тромбоцитов $\leq 10 \times 10^9/\text{л}$ и без проявлений кровоточивости. С лечебной целью при проявлениях геморрагического синдрома независимо от содержания тромбоцитов в периферической крови или синдрома внутрисосудистого свертывания.

До трансфузии ТК помещали в специальный термостатируемый перемещиватель. Сроки хранения во всех случаях не превышали 1 сутки.

Эффективность трансфузий ТК оценивали по показателю скорректированного прироста тромбоцитов через 24 часа (СПТ_{24ч}):

$$(\text{тромбоциты в ПК ч/з 24ч после трансфузий} - \text{до трансфузий}, 10^9/\text{л}) \times S/\text{м}^2$$

$$\text{абсолютное число тромбоцитов в перелитом тромбоконцентрате, } 10^{11}$$

Трансфузию считали эффективной при условии СПТ_{24ч} равного $4,5 \times 10^9/\text{л}$ или более.

Для выделения факторов, сопряженных с рефрактерностью к переливаниям, больных распределяли по числу эффективных трансфузий: менее 50% и $\geq 50\%$.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Excel и Statistica. Различия между отдельными показателями принимали достоверным при значении $p < 0,05$.

Результаты

Для анализа были отобраны результаты обследования и лечения 99 больных, из которых 41 получали курс ИР и 58 курс ВДХТ.

Сравнительная характеристика отдельных клинико-гематологических параметров приведена в таблице 1.

Медиана возраста больных в группах составила 42 и 36 лет, соответственно. Значимого различия нет.

Количество (медиана) трансфузий ТК, перелитых одному больному в каждой группе, составило 10 и 6, соответственно; $p=0,03$.

Число больных с эффективностью $\geq 50\%$ трансфузий ТК было значимо больше в группе ВДХТ, чем в группе ИР: 77,6% и 51,2%, соответственно. Напротив, больных с эффективностью менее 50% трансфузий было больше в группе ИР: 48,8% против 22,4%, соответственно; $p=0,006$.

Таблица 1. Клинико-гематологические показатели больных ОМЛ в период ИР и ВДХТ

Показатель	Индукция ремиссии	Высокодозная ХТ	<i>p</i>
Больные, n	41	58	
Возраст (Me), лет	42	36	*
Число трансфузий одному больному, Me	10	6	0,03
Больные с числом эффективных трансфузий $\geq 50\%$, n (%)	21 (51,2)	45 (77,6%)	0,006
Больные с числом эффективных трансфузий $< 50\%$, n (%)	20 (48,8)	13 (22,4%)	
Эффективность трансфузий тромбоконцентрата и активность ОМЛ			
вариант по классификации FAB	$p=0,031$	$p=0,042$	
вариант прогноза по шкале ELN		$p=0,045$	
Общая выживаемость, Me (мес.) и эффективность переливаний тромбоконцентрата			
$\geq 50\%$		не достигнута	$p=0,008$
$< 50\%$		9 мес.	
уровень тромбоцитов до начала ХТ			
$\leq 10 \times 10^9/\text{л}$	6,5 мес.	$p=0,049$	
$> 10 \times 10^9/\text{л}$	10 мес.		

Примечание. * - различие не значимо

При анализе клинико-гематологических факторов было установлены следующие результаты.

В группе ВДХТ выявлена зависимость эффективности переливаний ТК от активности болезни ($r=0,267$; $p=0,042$) и варианта прогноза по шкале ELN ($r=0,263$; $p=0,045$). Данная находка отчасти объясняется тем, что основная часть больных с эффективностью $\geq 50\%$ трансфузий ТК была в ИР: 86,7% против 13,3% в группе резистентными вариантами ОМЛ; $p=0,041$.

В группе больных, получавших ИР, установлена сопряженность эффективности трансфузий ТК с морфологической природой бластных клеток: $r=0,337$; $p=0,031$. Эффективность $\geq 50\%$ трансфузий ТК с большей частотой была зафиксирована у больных М1 и М2 вариантами по классификации FAB, нежели у больных М4 и М5 вариантами: 71,4% против 35,0%; $p=0,029$.

Дополнительно было обнаружено, медиана общей выживаемости (ОВ) больных ОМЛ на этапе ИР зависит от исходного уровня тромбоцитов в периферической крови. При количестве тромбоцитов более и менее $10 \times 10^9/\text{л}$ составляет 10 и 6,5 месяцев, соответственно; $p=0,049$. При проведении ВДХТ медиана ОВ зависит от эффективности трансфузий ТК: не достигнута при эффективности $\geq 50\%$ трансфузий и 9 месяцев при эффективности менее 50% трансфузий; $p=0,008$.

Обсуждение

Эффективность лечения больных ОМЛ складывается из многих факторов [11-14].

Во-первых, биологического фенотипа бластных клеток. Молекулярно-генетические и эпигенетические повреждения принимают не только непосредственное участие в развитии патологического клона и формировании клинико-гематологической картины, но и определяют чувствительность лейкозных клеток к цитостатическим препаратам [15].

Во-вторых, от возраста больного, а именно: общесоматического статуса и наличия, характера и тяжести сопутствующих заболеваний внутренних органов. Данная информация позволяет выбрать интенсивность ХТ таким образом, чтобы вероятность достижения ответа превосходила риск летального исхода от токсических осложнений [16].

Не менее важным фактом является следование условиям выбранного протокола. Соблюдение этапности лечения, доз химиопрепаратов и временных интервалов между курсами, выполнение трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток позволяют максимально редуцировать объем лейкозного клона за короткий промежуток времени, предупредить развитие резистентности и, как следствие, повысить показатели выживаемости с вероятностью полного выздоровления [17].

Вместе с тем необходимо отметить, что проведение современных протоколов лечения невозможно без адекватной сопроводительной терапии.

Переливание тромбоконцентрата с целью коррекции уровня тромбоцитов в периферической крови нередко начинается до инициации ХТ в виду тяжелой тромбоцитопении, обусловленной лейкозной инфильтрацией КМ со снижением количества мегакариоцитов и их функциональной активности. Потребность в трансфузиях

увеличивается после окончания курса ИР, в период так называемой постцитостатической аплазии КМ.

В настоящее время трансфузии тромбоконцентрата – единственный способ лечения геморрагических осложнений у больных ОМЛ. Переливания тромбоконцентрата нередко сопровождаются развитием осложнений, для профилактики которых используют разные методы. Так центрифугирование клеточной взвеси способствует уменьшению ее объема и позволяет минимизировать риск развития острой левожелудочковой недостаточности. Облучение гамма лучами является методом предупреждения посттрансфузионной реакции трансплантат против хозяина. Снижение примеси лейкоцитов посредством фильтрации препятствует аллосенсибилизации и развитию иммунных механизмов неэффективности трансфузий [18,19].

Тем самым в большинстве случаев отсутствие прироста тромбоцитов после переливаний обусловлено неиммунными факторами. Так по данным R. Jackman с соавт. [20] даже обнаружение анти-HLA антител не всегда ассоциировано с рефрактерностью к трансфузиям ТК, особенно в случае их низкого уровня. Немаловажным дополнительным фактором может быть и цитостатическая терапия, проведение которой сопровождается супрессивным действием на иммунокомпетентные клетки с подавлением продукции антител [21].

Признавая значимость неиммунных факторов в развитии резистентности, следует отметить их многообразие. К ним относятся, в частности, лихорадка, сепсис, лекарственные препараты (например, амфотерицин В, циклоспорин А), спленомегалия, веноокклюзионная болезнь, реакция трансплантат против хозяина.

Анализ механизмов, сопряженных с неэффективностью трансфузий ТК, является важным этапом подготовки к проведению индукционной и консолидирующей терапии. Это позволяет спрогнозировать длительность и тяжесть цитопении, предполагаемый объем трансфузионной терапии.

В результате проведенного исследования было установлено, что морфологическая природа бластных клеток и вариант прогноза – факторы, сопряженные с резистентностью к трансфузиям ТК. Немаловажной находкой является и тот факт, что значимость данных факторов различается в зависимости от вида ХТ: индукционной или высокодозной.

Обнаружено, что у больных ОМЛ на этапе ИР число неэффективных трансфузий тромбоконцентрата значимо выше у больных М4 и М5 вариантами по классификации FAB, т.е. с моноцитарной природой бластных клеток. Напротив, при проведении ВДХТ

отсутствие ожидаемого прироста тромбоцитов чаще наблюдается у больных с активной стадией болезни и с неблагоприятным прогнозом.

Количество больных, чьи данные были проанализированы, а также ретроспективный характер исследования не позволяют расшифровать механизмы ассоциации морфологических и прогностических факторов с эффективностью трансфузий ТК. Один из возможных механизмов – синдром потребления тромбоцитов, развитие которого может быть следствием дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов и/или активации свободнорадикального окисления в результате цитостатического воздействия химиопрепаратов на клетки. Неэффективность основной части трансфузий ТК у больных ОМЛ с неблагоприятным прогнозом, вероятно, объясняется значительным объемом резидуальных лейкозных клеток даже при достижении полной ремиссии [22].

Не менее важными находками являются факты установления прогностической значимости исходного уровня тромбоцитов (до начала ИР) и эффективности трансфузий ТК (на этапе ВДХТ) на выживаемость больных ОМЛ. Помимо объема резидуальных лейкозных клеток следует предположить, что обнаруженный феномен обусловлен особенностями биологического фенотипа клеток патологического клона и стромального микроокружения. Основанием для данного предположения является неэффективность ИР и развитие рецидива у 6 из 9 больных с глубокой тромбоцитопенией дебюте ОМЛ.

Заключение

Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено, что эффективность трансфузий ТК непосредственно ассоциирована с клинико-гематологическими показателями. Вероятность развития резистентности можно оценить по морфологической природе бластных клеток на этапе ИР и по прогностическому варианту по шкале ELN на этапе ВДХТ. Следует признать, что расширение спектра неиммунных факторов, сопряженных с рефрактерностью к переливаниям компонентов крови, позволит улучшить качество планирования объема гемокомпонентной терапии и, тем самым, уменьшить частоту нежелательных токсических осложнений с повышением показателей выживаемости больных ОМЛ.

Литература

1. Волкова М.А., ред. // Клиническая онкогематология М: Медицина. – 2007. –Р . 1120.
2. Жибурт Е. Б. // Трансфузиология. СПб.: Питер. – 2002. – Р.736.

3. Platelet transfusion therapy. National Institutes of Health Consensus Conference // Transfusion Medicine Reviews – 1987. – Vol.1, N. 3. – P. 195-200.
4. Slichter S.J. Evidence-based platelet transfusion guidelines // Hematology (American Society of Hematology Education Program) – 2007. – P. 172-178.
5. Li G., Liu F., Mao X., Hu L. The investigation of platelet transfusion refractory in 69 malignant patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation // Transfusion and apheresis science – 2011. – Vol.45, N.1. – P. 21-24.
6. Slichter S.J., Davis K., Enright H. et al. Factors affecting post transfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients // Blood – 2005. – Vol.105, N.10. – P. 4106-4114.
7. Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A. et al. The 2008 revision of the World Health Organisation (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes // Blood – 2008. – Vol.114, N.5. – P. 937-951.
8. Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., [Flandrin G.](#), [Galton D.A.](#), [Gralnick H.R.](#), [Sultan C.](#) Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group // British journal of haematology. – 1976. – Vol.33, N.4. – P. 451-458.
9. Dohner H., Estey E.H., Amadori S. et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet // Blood. – 2010. – Vol.115, N.3. – P. 453-474.
10. Cheson B.D., Bennett J.M., Kopecky K.J. et al. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia // Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2003. – Vol.21, N.24. – P. 4642-4649.
11. [Levin M.D.](#), [de Veld J.C.](#), [van der Holt B.](#), [van 't Veer M.B.](#) Immune and nonimmune causes of low recovery from leukodepleted platelet transfusions: a prospective study // Annals of hematology. – 2003. – Vol.82, N.6. – P. 357-362.
12. Slichter S.J. Evidence-based platelet transfusion guidelines // Hematology ([Am Soc Hematol Educ Program](#)); - 2009. – P. 159-187.
13. [Doughty H.A.](#), [Murphy M.F.](#), [Metcalf P.](#) et al. Relative importance of immune and non-immune causes of platelet refractoriness // [Vox Sanguinis](#). – 1994. – Vol.66, N.33. – P. 200-205.
14. Semple J.W., Italiano J.E. Jr., Freedman J. Platelets and the immune continuum // Nature reviews. Immunology. – 2011. – Vol.11, N.4. – P. 264-274.

15. Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Мартыненко Л.С., Москаленко М.В., Иванова М.П., Аксенова В.Ю. и др. Возраст и кариотип - факторы риска у больных первичным острым миелоидным лейкозом // Клиническая онкогематология. – 2010. - Vol.4. – P. 359-364.
16. Appelbaum F. ASH Educational Book // Washington. - 1999. – P. 497 – 499.
17. De vita V. In: DeVita V., Heeman S., Rosenberg S.A. Cancer. Principles and practice of oncology. -5th ed. // Philadelphia – New York, - 1997. – P. 333-347
18. Murphy M.F., Waters A.H. Platelet transfusions: The problem of refractoriness // Blood Rev – 1990. – Vol.4, N.1. – P. 16-24.
19. Paolo R. A mini-review on platelet refractoriness // Haematologica. – 2005. – Vol. 90, N.2. – P. 247-253.
20. Jackman R.P., Deng X., Bolgiano D., Lebedeva M., Heitman J.W., Busch M.P. et al. Low-level HLA antibodies do not predict platelet transfusion failure in TRAP study participants // Blood. – 2013. – Vol.121, N.16. – P. 3261-3266.
21. Murphy M.F., Metcalfe P., Ord J. et al. Disappearance of HLA and platelet-specific antibodies in acute leukaemia patients alloimmunized by multiple transfusions // British journal of haematology. – 1987. – Vol.67, N.3. – P. 255-260.
22. Rizzari C., Cazzaniga G., Goliva T., et al. Predictive factors and survival in childhood acute myeloid leukemia: role of minimal residual disease // Expert review of anticancer therapy. – 2011. – Vol.11, N.9. – P. 1391-401.