

Детекция диссеминированных опухолевых клеток и их взаимосвязь с популяцией костномозговых лимфоцитов у больных немелкоклеточным раком легкого

Т.М. Джуманазаров¹, С.В. Чулкова^{✉1,2}, Н.Н. Тупицын¹, О.А. Чернышева¹, А.К. Аллахвердиев^{3,4}, А.Д. Палладина¹, Н.А. Купрышина¹, О.П. Колбаская¹, П.В. Кононец¹, Б.Б. Ахмедов¹, С.С. Герасимов¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

³ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логанова» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

⁴ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

✉chulkova@mail.ru

Аннотация

Введение. Детекция диссеминированных опухолевых клеток (ДОК) при солидных опухолях является важной составляющей оценки прогноза заболевания. Поражение костного мозга наблюдается часто. Существуют данные, указывающие на важную роль субпопуляций лимфоцитов костного мозга в процессах гематогенного метастазирования.

Цель. Оценить частоту поражения костного мозга у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) на основании обнаружения ДОК методом проточной цитометрии, а также их влияние на популяции лимфоцитов костного мозга.

Материалы и методы. Исследовали 62 образца костного мозга больных с верифицированным диагнозом НМРЛ: аденокарцинома (33), плоскоклеточный рак (27), другие виды (2). Методы: морфологический, многоцветная проточная цитометрия. Изучены ДОК, популяции лимфоцитов CD3, CD4, CD8, CD19/CD20, CD16, CD27. Сбор и анализ: FACS Canto II, США, программа Kaluza Analysis v2.1.

Результаты. В костном мозге ДОК (EPCAM+CD45-) были обнаружены у 43,5% пациентов с НМРЛ (в качестве порогового значения приняты 1 клетка на 10 млн миелокариоцитов). Наличие ДОК не коррелировало с размером опухоли, статусом лимфоузлов, стадией опухолевого процесса. ДОК чаще наблюдались при более дифференцированных опухолях ($p=0,023$). Выявлено достоверное повышение уровня субпопуляций CD16+CD4-NK-клеток ($p=0,002$), CD27+CD3+T-клеток ($p=0,015$) при поражении костного мозга.

Заключение. Установлена возможность детекции ДОК в костном мозге больных НМРЛ, у 43,5% больных НМРЛ в костном мозге выявлены ДОК, при этом их наличие установлено даже при локализованном опухолевом процессе. Более частое поражение костного мозга наблюдалось при высокодифференцированных опухолях. Выявлена взаимосвязь между ДОК и костномозговыми популяциями лимфоцитов: субпопуляции CD16+CD4-, CD27+CD3+.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, костный мозг, диссеминированные опухолевые клетки, Т-клетки, CD3, CD27, CD16, проточная цитометрия.

Для цитирования: Джуманазаров Т.М., Чулкова С.В., Тупицын Н.Н. и др. Детекция диссеминированных опухолевых клеток и их взаимосвязь с популяцией костномозговых лимфоцитов у больных немелкоклеточным раком легкого. Современная Онкология. 2020; 22 (3): 94–99. DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200137

Original Article

Detection of disseminated tumor cells and their relationship with a population of bone marrow lymphocytes in patients with non-small cell lung cancer

Temirbek M. Djumanazarov¹, Svetlana V. Chulkova^{✉1,2}, Nikolay N. Tupitsyn¹, Olga A. Chernysheva¹, Arif K. Allakhverdiev^{3,4}, Alexandra D. Palladina¹, Natalya A. Kupryshina¹, Olga P. Kolbatskaya¹, Pavel V. Kononetz¹, Bakhrom B. Akhmedov¹, Sergey S. Gerasimov¹

¹Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia;

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

³Loginov Moscow Clinical Scientific and Practical Center, Moscow, Russia;

⁴Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

✉chulkova@mail.ru

Abstract

Introduction. Detection of disseminated tumor cells (DTC) in solid tumors is an important component of the assessment of disease prognosis. Bone marrow damage is common. There is evidence indicating an important role for bone marrow lymphocyte subpopulations in hematogenous metastasis.

Aim. To evaluate the frequency of bone marrow damage in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) based on the detection of DTC by flow cytometry, as well as their effect on the population of bone marrow lymphocytes.

Materials and methods. 62 bone marrow samples of patients with a verified diagnosis of NSCLC: adenocarcinoma (33), squamous cell carcinoma (27), other types (2). Methods: morphological, multicolor flow cytometry. Studied DTC, lymphocyte populations CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD16, CD27. Collection and analysis: FACS Canto II, USA, Kaluza Analysis v2.1.

Results. In bone marrow, DTC (EPCAM+CD45-) were found in 43.5% of patients with NSCLC (1 cell per 10 million myelocariocytes was taken as the threshold value). The presence of DTC did not correlate with the size of the tumor, the status of the lymph nodes, and the stage of the tumor process. DTC was more often observed in more differentiated tumors ($p=0.023$). A significant increase in the level of subpopulations of CD16+CD4-NK-cells ($p=0.002$), CD27+CD3+T-cells ($p=0.015$) with bone marrow damage was revealed.

Conclusion. The possibility of detecting DTC in the bone marrow of patients with NSCLC was established, in 43.5% of patients with NSCLC in the bone marrow DTC was detected, and their presence was established even with a localized tumor process. More frequent bone marrow damage was observed with well-differentiated tumors. The relationship between DTC and bone marrow lymphocyte populations was revealed: subpopulations of CD16+CD4-, CD27+CD3+.

Key words: non-small cell lung cancer, bone marrow, disseminated tumor cells, T-cells, CD3, CD27, CD16, flow cytometry.

For citation: Djumanazarov T.M., Chulkova S.V., Tupitsyn N.N. et al. Detection of disseminated tumor cells and their relationship with a population of bone marrow lymphocytes in patients with non-small cell lung cancer. Journal of Modern Oncology. 2020; 22 (3): 94–99. DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200137

Введение

Рак легкого является одним из самых распространенных онкологических заболеваний во всем мире, от которого ежегодно умирают 1,59 млн человек [1]. По данным мировой статистики, только 15% больных имеют локализованный процесс. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) составляет 80% случаев и имеет свои нюансы клинического течения, лечения и прогноза. Как известно, на сегодняшний день остро стоит проблема прецизионной диагностики НМРЛ, поскольку такая диагностика позволяет определить индивидуальные подходы в лечении, включая таргетную и иммунотерапию.

На протяжении последних десятилетий одним из перспективных направлений является диагностика гематогенного микрометастазирования в костный мозг, поскольку стало ясно, что основной причиной смерти от рака является метастатическое распространение опухолевых клеток [2, 3]. Уже отработаны методы детекции диссеминированных опухолевых клеток (ДОК) в костном мозге при разных видах опухолей [4, 5]. Выявлен ряд особенностей, характеризующих ДОК как отдельную популяцию клеток, отличающихся от первичной опухоли и обладающих эпигенетическими и генетическими преимуществами [6]. Установлено, что ДОК, колонизирующие костный мозг, приобретая новые биологические свойства, имеют больший метастатический потенциал. Интересно, что ДОК по своим характеристикам схожи со стволовыми клетками: могут экспрессировать стволовклеточные антигены [7, 8], обладают пластичностью, способны к самоподдержанию и обратимому состоянию покоя [9], а также проявляют устойчивость к химиолучевому лечению [10].

Показана взаимосвязь между поражением костного мозга и прогнозом заболевания при некоторых солидных опухолях: наличие ДОК в костном мозге является неблагоприятным фактором прогноза общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования [11–13]. Установлена значимость ДОК для мониторинга эффективности терапии [14]. Данные исследований при НМРЛ неоднозначны, но имеется указание на важность выявления ДОК и наличие корреляции с прогнозом заболевания [11, 15–17].

Существует несколько исследований, посвященных изучению субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток в костном мозге при злокачественных опухолях. Результаты работы Т.В. Горбуновой свидетельствуют о важной роли субпопуляций Т-клеток, естественных киллеров и ТCR-клеток в процессах гематогенного метастазирования при рабдомиосаркоме у детей [18]. Показано, что в костном мозге увеличено содержание эффекторов противоопухолевого иммунитета [19–21]. В недавней работе установлена связь ДОК с субпопуляцией костномозговых CD8+ лимфоцитов при раке молочной железы (РМЖ) [12]. Очевидно,

при метастатическом поражении костного мозга включаются определенные механизмы врожденного и приобретенного иммунного ответа с целью контроля над опухолевыми клетками.

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день результаты исследований позволяют утверждать, что диагностика метастатического поражения костного мозга у больных НМРЛ является актуальной задачей и требует всестороннего анализа: изучение закономерностей появления ДОК в костном мозге больных НМРЛ, выявление их биологических особенностей по сравнению с клетками первичной опухоли, а также изучение микроокружения, с целью оценки возможности использования ДОК как потенциальных мишеней в терапии НМРЛ. Последнее открывает новые перспективы прецизионной терапии у данной группы больных.

Цель исследования – оценить частоту поражения костного мозга у больных НМРЛ на основании обнаружения ДОК методом проточной цитометрии, а также их взаимосвязь с субпопуляционным составом лимфоцитов костного мозга.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы костного мозга, которые были получены при стерильной пункции у 62 больных с верифицированным диагнозом НМРЛ, средний возраст которых составил 63 года: 48 (77,4%) мужчин и 14 (22,6%) женщин. Все больные находились на обследовании и получили лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» с 2018 по 2019 г. По стадиям опухолевого процесса больные распределились следующим образом: IA – 5 (8,1%), IB – 13 (21%), IIA – 12 (19,4%), IIB – 9 (14,5%), IIIA – 13 (21%), IIIB – 4 (6,5%), IV – 6 (9,7%); табл. 1. Наиболее частой гистологической формой была аденокарцинома, установленная в 53,3% ($n=33$) случаев. У 27 (43,5%) больных диагностирован плоскоклеточный рак и в двух случаях – иные гистологические виды.

Морфологическое исследование препаратов костного мозга включало подсчет миелограммы и поиск ДОК. Иммунофлуоресцентный анализ выполнялся методом проточной цитометрии (цитометр FACS Canto II, США). В исследовании использованы моноклональные антитела, меченные напрямую флюорохромами (табл. 2). С их помощью в костном мозге изучены ДОК, субпопуляции лимфоцитов CD3, CD4, CD8, CD19/CD20, CD16, CD27. Оценка экспрессии антигенов проведена с помощью программы Kaluza Analysis v2.1 (Beckman Coulter, США).

ДОК выявлялись на основании отсутствия экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45 в сочетании с экспрессией EPCAM или KL-1. Анализ проводился среди 20 млн миелокариоцитов (или все клетки образца), при этом положительными считались случаи при обнаружении не менее 1 клетки на 10 млн миелокариоцитов.

Таблица 1. Распределение больных НМРЛ по стадиям опухолевого процесса
Table 1. The distribution of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) by the stages of the tumor process

Стадия заболевания	Относительное число больных, %	Абсолютное число больных
IA	8,4	5
IB	20,8	13
IIA	19,2	12
IIB	14,4	9
IIIA	20,8	13
IIIB	6,6	4
IV	9,8	6

Таблица 2. Моноклональные антитела
Table 2. Monoclonal antibodies

Антитело	Флуоресцентная метка	Производитель
CD45	V500-A, V450, PerCP	Becton Dickinson, США
EpCAM	FITC-A, PE	Becton Dickinson, США
KL-1	FITC-A	Immunotech, Франция
CD3	APC	Becton Dickinson, США
CD4	V450	Becton Dickinson, США
CD8	APC-H7	Becton Dickinson, США
CD19	FITC-A, PE	Becton Dickinson, США
CD20	APC-H7	Becton Dickinson, США
CD16	FITC	Becton Dickinson, США
CD27	PerCP	Becton Dickinson, США
CD2	V450	Becton Dickinson, США

Примечание. Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета IBM-SPSS Statistics v.18.

Таблица 3. Взаимосвязь между популяциями лимфоцитов костного мозга и ДОК
Table 3. Relationship between lymphocyte populations bone marrow and Detection of disseminated tumor cells (DTC)

Субпопуляции	ДОК	n	M±m	p
CD45+CD3+	отсутствуют	25	70,2±1,7	0,051
	присутствуют	16	62,6±3,9	
CD27+CD3+	отсутствуют	23	57,4±3,6	0,015
	присутствуют	14	70,4±2,8	
CD16+CD4-	отсутствуют	17	8,1±0,8	0,002

Субпопуляционный состав костного мозга изучался в гейте зрелых лимфоцитов, на основании выраженной экспрессии CD45 в сочетании с низкими характеристиками бокового светорассеяния (SSC).

Результаты и обсуждение

По результатам иммунологического исследования костного мозга больных НМРЛ установлено, что его поражение наблюдалось в 43,5% случаев (n=27). По данным мировой литературы, этот показатель варьирует от 22 до 60% в зависимости от методов исследования [22]. В проведенном нами исследовании не было установлено статистически значимой взаимосвязи ДОК-положительного статуса опухоли с ее размером, стадией. Интересно отметить, что наибольшая частота обнаружения ДОК отмечена при IA стадии – 60,7% (3/5), а минимальная – при IIIB – 25,0% (1/4); рис. 1. Большинство ДОК-положительных случаев наблюдалось при небольших размерах опухоли. В исследованиях германских и японских ученых, напротив, установлена положительная корреляция между размером опухоли и наличием опухолевых клеток в костном мозге [17, 23].

Сравнение гистологического вида опухоли с частотой наличия ДОК в костном мозге установило, что при аденокар-

Рис. 1. Частота поражения костного мозга при НМРЛ в зависимости от стадии.
Fig. 1. The frequency of bone marrow lesions in NSCLC depending on the stage.

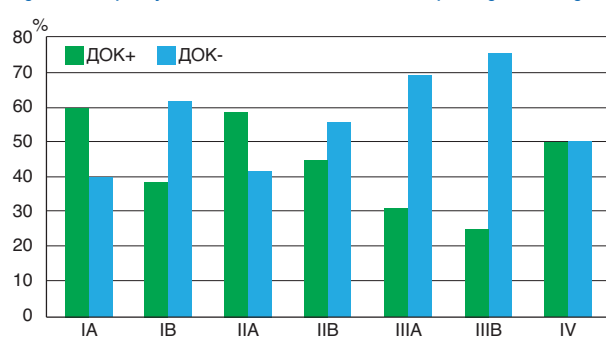
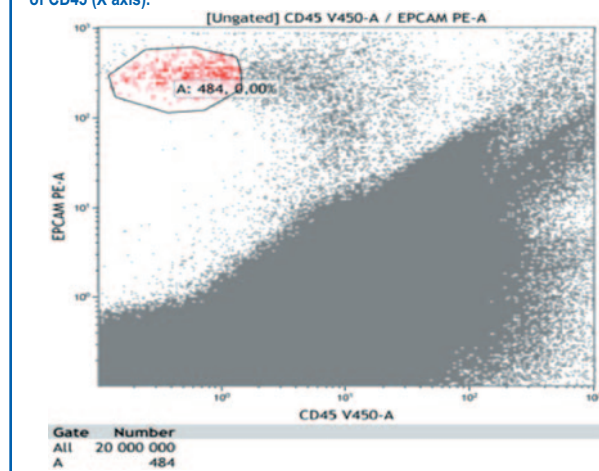


Рис. 2. ДОК в костном мозге больного Ж. На цитограмме в гейте А ДОК наблюдались на основании яркой экспрессии EPCAM (ось Y) и отсутствия CD45 (ось X).

Fig. 2. DTC in bone marrow. Patient Zh. On the cytogram in gate A DTC was observed based on the bright expression of EPCAM (Y axis) and the absence of CD45 (X axis).



цине поражение костного мозга определялось у 45,5% (15/33) больных, а при плоскоклеточном раке – в 37% (10/27) случаев. При высокодифференцированном раке (G1) ДОК выявлялись в костном мозге достоверно чаще ($p=0,023$), что согласуется с результатами исследований, проведенных при НМРЛ зарубежными коллегами [22].

Количество выявленных опухолевых клеток в костном мозге больных НМРЛ было различным и не зависело от стадии. Например, малое количество клеток (не более 5) обнаружено как при наличии метастазов в отдаленные органы (M1), так на более ранних стадиях. В целом число ДОК в образцах костного мозга было низким: у большинства больных не превышало 5 клеток на 10 млн. При пересчете на 1 млн ДОК определялись у 6,5% больных. Максимальное число ДОК в образце было обнаружено у одного больного, у которого установлена T2aN1M0 стадия. На рис. 2 представлена цитограмма данного образца костного мозга. Как видно из рис. 1, на 20 млн миелокарицитов выявлены 484 опухолевые клетки, характеризующиеся яркой экспрессией EPCAM и отсутствием экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45. При этом морфологически поражения костного мозга у данного больного не установлено. Следует отметить, что клеточность костного мозга была повышенная (229 тыс./мкл), обращали на себя внимание сниженное количество метамиелоцитов (6,4% при норме 8–15%), сниженный индекс созревания нейтрофилов (0,4 при норме 0,5–0,9) и повышение оксифильных форм нормобластов (7,6% при норме 0,8–5,6%).

Таким образом, в ходе исследования установлена возможность детекции ДОК у больных НМРЛ, частота которых составила 43,5%. Аналогичные проценты ДОК получены и другими авторами [23]. Выявление поражения костного мозга на I–II стадиях отражает раннюю гематогенную диссемина-

Рис. 3. Пример выраженной пропорции NK-клеток костного мозга при НМРЛ: а – гейт лимфоцитов; б – в гейте лимфоцитов в координатах CD16/CD4 NK-клетки (CD16+CD4-) составляют 12,3%.

Fig. 3. Example of a pronounced proportion of bone marrow NK cells in patient with NSCLC: a – lymphocyte gate; b – in the lymphocyte gate in the coordinates of CD16/CD4 NK cells (CD16+CD4-) make up 12.3%.

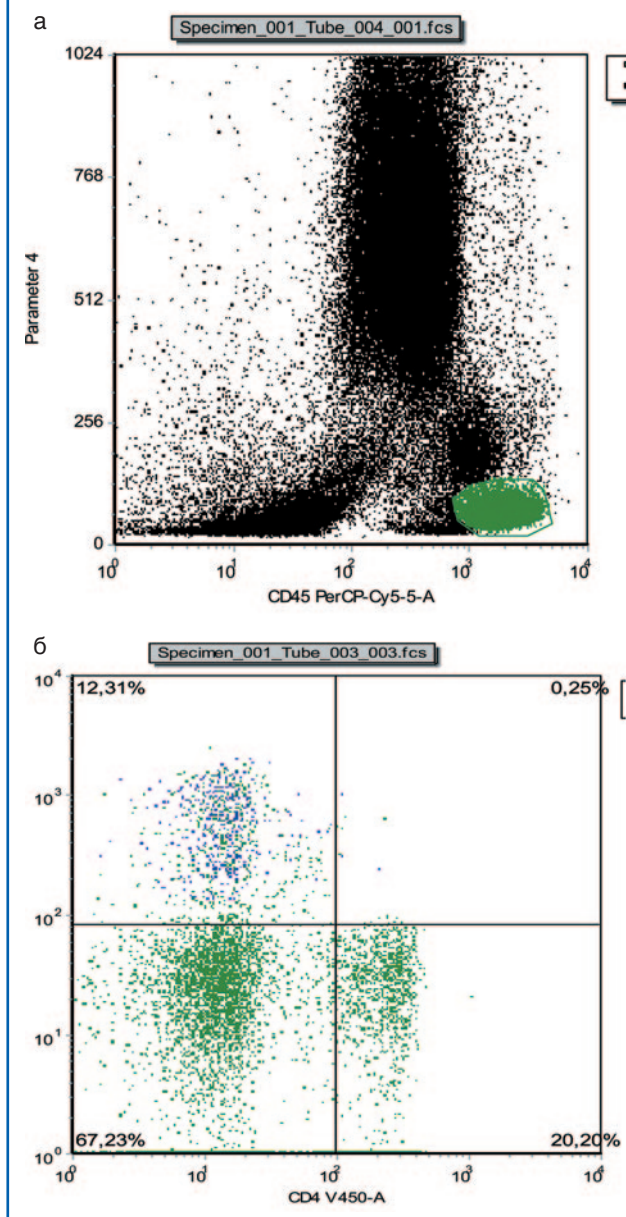
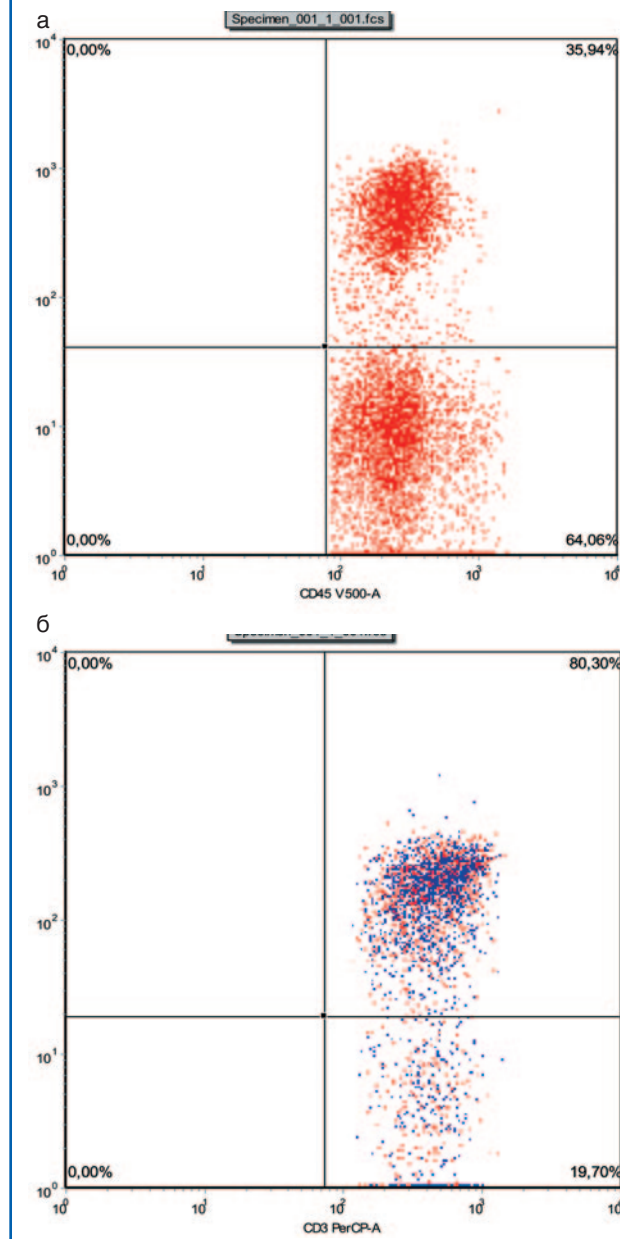


Рис. 4. Пример экспрессии CD27 на Т-клетках костного мозга больной НМРЛ: а – гейт CD3+ лимфоцитов; б – в гейте CD3+ лимфоцитов в координатах CD27/CD3 популяция CD27+CD3+ клеток составляет 80,3%.

Fig. 4. Example of expression CD27 of bone marrow T cells in patient with NSCLC: a – gate of CD3+ lymphocytes; b – in the gate of CD3+ lymphocytes in coordinates CD27/CD3 population of CD27+CD3+ cells make up 80.3%.



цию НМРЛ. Важно отметить, что ДОК достоверно чаще обнаруживаются при более дифференцированных опухолях.

В настоящее время уделяется много внимания изучению субпопуляционного состава лимфоцитов костного мозга. В нескольких работах, посвященных РМЖ, отмечено изменение их пропорции по сравнению с нормой. Е. Solomayer и соавт. сравнили субпопуляционный состав лимфоцитов костного мозга доноров и больных РМЖ; оказалось, что количество Т-клеток (CD3+) у больных снижено в сравнении с нормой (30,6% против 40,8%; $p < 0,05$) [20]. В другой работе у больных установлено наличие выраженной популяции NK-клеток (CD3-CD16+ 15,8%; $p = 0,028$) [21].

Кроме того, по мнению ученых, важным является изучение популяций лимфоцитов у онкобольных как при отсутствии, так и при наличии микрометастазов в костном мозге. Данные нескольких исследований свидетельствуют, что иммунокомпетентные клетки могут играть важную роль в предотвращении развития микрометастатических очагов [24]. Имеются работы, сообщающие об изменении пропорции популяций

лимфоцитов костного мозга у больных при наличии в нем ДОК. Так, уровни субпопуляций CD4+, CD8+, CD56+ достоверно выше в случаях поражения костного мозга [19]. В работе других ученых получены иные данные в отношении CD8+ клеток [12]. Уровень CD8+ лимфоцитов в костном мозге больных РМЖ был достоверно ниже и составлял 39,2% против 48,1% у больных без поражения костного мозга.

В нашем исследовании при изучении лимфоцитов костного мозга также были обнаружены некоторые особенности. Мы сравнили уровни субпопуляций лимфоцитов в зависимости от ДОК-статуса. Выявленные закономерности касались следующих субпопуляций: CD45+CD3+, CD27+CD3+, CD2+CD3+, CD16+CD4- (табл. 3). Как видно из таблицы, среднее содержание CD45+CD3+ клеток было ниже у ДОК-положительных больных, которое составило 62,5% ($n = 16$) против 70,2% ($n = 25$); различия близки к достоверным ($p = 0,051$). Что касается субпопуляции CD16+CD4-, то ее преобладание достоверно наблюдалось в группе больных с ДОК-положительным статусом 15,1% ($n = 6$) и 8,6% ($n = 16$)

($p=0,002$), что согласуется с литературными данными. Повышенные уровни NK-клеток наблюдались в исследовании M. Feuerer [19]. Пример выраженной пропорции NK-клеток при НМРЛ (CD16+CD4-) представлен на рис. 3.

Далее проводился анализ в гейте зрелых Т-клеток (CD3+). Важные данные получены в отношении CD27+ клеток. Известно, что молекула CD27 играет ключевую роль в активации Т-клеток, обеспечивая проведение костимуляторного сигнала [25]. Связывание ее с лигандом CD70 приводит к усилению пролиферации и дальнейшей дифференцировке Т-клеток в эффекторные и клетки памяти [26]. В данной работе значительная пропорция (70%, $n=14$) субпопуляции CD27+CD3+ клеток была обнаружена у больных НМРЛ, имеющих поражение костного мозга (различия достоверны; $p=0,015$); рис. 4. Означает ли это, что повышение уровня зрелых Т-клеток, экспрессирующих CD27, является ответной реакцией системы противоопухолевого иммунитета на гематогенное микрометастазирование в костный мозг? Служит ли это отражением взаимодействия между ДОК и лимфоцитарными популяциями костного мозга? Возможно, это так и есть, но необходим более подробный анализ в большей когорте больных. Следует отметить, что популяция Т-клеток памяти гетерогенна [25]. Субпопуляции Т-клеток памяти помимо экспрессии CD27 могут нести разные антигены, в числе которых перфорин, гранзимы – так называемые эффекторные Т-клетки памяти [27]. Наличие выраженной субпопуляции CD27+Perforin+ клеток установлено в недавнем исследовании при раке легкого [28]. Поэтому факт увеличения пропорции субпопуляции CD27+CD3+ клеток при наличии ДОК в костном мозге обращает на себя внимание

и заслуживает детального изучения, поскольку это может пролить свет на иммунные механизмы контроля длительного персистирования ДОК в костном мозге.

Таким образом, проведенный анализ взаимосвязи между поражением костного мозга и его лимфоцитарными популяциями выявил достоверное повышение уровня субпопуляций CD16+CD4-NK-клеток, CD27+CD3+Т-клеток.

Выводы

В данном исследовании проведена оценка ДОК в костном мозге больных НМРЛ. Установлено, что ДОК при НМРЛ выявляются в 43,5% случаев, при этом даже у больных с локализованным опухолевым процессом. Последнее наблюдение отражает, что гематогенное метастазирование начинается на ранних стадиях развития НМРЛ. Отмечено, что ДОК достоверно чаще обнаруживаются при более дифференцированном раке. Установлена взаимосвязь между ДОК и костномозговыми популяциями лимфоцитов: субпопуляции CD16+CD4-, CD27+CD3+ клеток были достоверно более выраженными у больных с поражением костного мозга. В последних научных исследованиях рассматривается возможность элиминации популяции ДОК посредством усиления иммунного контроля. Привлекательной перспективой является использование антител, нацеленных на CD27 [29].

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Литература/References

- American Cancer Society. Cancer Fact and Figures. 2018.
- Braun S, Vogl FD, Naume B et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353: 793–802. DOI: 10.1056/NEJMoa050434
- Alix-Panabieres C, Muller V, Pantel K. Current status in human breast cancer micrometastasis. *Curr Opin Oncol* 2007; 6: 558–63. DOI: 10.1097/CCO.0b013e3282f0ad79
- Pantel K, Alix-Panabieres C. Bone marrow as a reservoir for disseminated tumor cells: a special source for liquid biopsy in cancer patients. *Bonekey Rep* 2014; 3: 584. DOI: 10.1038/bonekey.2014.79
- Тупицын Н.Н. Костный мозг онкологического больного: стадирование опухолей, гемопоз, иммунная система. *Иммунология гемопоза*. 2018; 16 (2): 10–54. [Tupitsyn N.N. Kostnyy mozg onkologicheskogo bol'nogo: stadirovaniye opukholei, gemo-poez, immunnaya sistema. *Immunologiya gemo-poeza*. 2018; 16 (2): 10–54 (in Russian).]
- Маркина И.Г., Тупицын Н.Н., Михайлова И.Н., Демидов Л.В. Гематогенное метастазирование опухолей: ключевые моменты и эволюционирующие парадигмы. *Иммунология гемопоза*. 2018; 6 (1): 109–32. [Markina I.G., Tupitsyn N.N., Mikhailova I.N., Demidov L.V. Gematogennoe metastazirovaniye opukholei: kliuchevyye momenty i evolyutsioniruyushchye paradigmy. *Immunologiya gemo-poeza*. 2018; 6 (1): 109–32 (in Russian).]
- Чулкова С.В., Чернышева О.А., Маркина И.Г. и др. Стволовые опухолевые клетки меланомы. Поражение костного мозга. Обзор и представление собственных данных. *Вестн. РНЦПР*. 2019; 4: 182–97. [Chulkova S.V., Chernysheva O.A., Markina I.G. et al. Stvolovyye opukholevyye kletki melanomy. Porazheniye kostnogo mozga. Obzor i predstavleniye sobstvennykh dannykh. *Vestn. RNTsRR*. 2019; 4: 182–97 (in Russian).]
- Bartkowiak K, Effenberger KE, Harder S et al. Discovery of a novel unfolded protein response phenotype of cancer stem/progenitor cells from the bone marrow of breast cancer patients. *J Proteome Res* 2010; 9: 3158–68. DOI: 10.1021/pr100039d
- Ghajar CM. Metastasis prevention by targeting the dormant niche. *Nat Rev Cancer* 2015; 15 (4): 238–47. DOI: 10.1038/nrc3910
- Sai B, Xiang J. Disseminated tumour cells in bone marrow are the source of cancer relapse after therapy. *J Cell Mol Med* 2018; 22: 5776–86. DOI: 10.1111/jcmm.13867
- Pantel K, Brakenhoff RH, Brandt B. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 329–40. DOI: 10.1038/nrc2375
- Рябчиков Д.А., Безнос О.А., Дудина И.А. и др. Диссеминированные опухолевые клетки у пациентов с люминальным раком молочной железы. *Рос. биотерапевт. журн.* 2018; 17 (1): 53–7. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-1-53-57 [Riabchikov D.A., Beznos O.A., Dudina I.A. et al. Disseminirovannyye opukholevyye kletki u patsientov s liuminal'ny'm rakom molochnoy zhelezy. *Ros. bioterapevtich. zhurn.* 2018; 17 (1): 53–7. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-1-53-57 (in Russian).]
- Chernysheva O, Markina I, Demidov L et al. Bone marrow involvement in melanoma. Potentials for detection of disseminated tumor cells and characterization of their subsets by flow cytometry. *Cells* 2019; 8: 627. DOI: 10.3390/cells8060627
- Бесова Н.С., Обаревич Е.С., Давыдов М.М. и др. Прогностическое значение диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге больных диссеминированным раком желудка до начала противоопухолевой терапии. *Фарматека*. 2017; 17 (350): 62–6. [Besova N.S., Obarevich E.S., Davydov M.M. et al. Prognosticheskoye znacheniye disseminirovannykh opukholevykh kletok v kostnom mozge bol'nykh disseminirovannym rakom zheludka do nachala protivopukholevoy terapii. *Farmateka*. 2017; 17 (350): 62–6 (in Russian).]
- Rud AK, Borgen E, Maelandsmo GM et al. Clinical significance of disseminated tumour cells in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 2013; 109: 1264–70. DOI: 10.1038/bjc.2013.450
- Kasimir-Bauer S, Schleucher N, Weber R et al. Evaluation of different markers in non-small cell lung cancer: prognostic value of clinical staging, tumour cell detection and tumour marker analysis for tumour progression and overall survival. *Oncol Rep* 2003; 10: 475–82. doi.org/10.3892/or.10.2.475
- Yasumoto K, Osaki T, Watanabe Y et al. Prognostic value of cytokeratin-positive cells in the bone marrow and lymph nodes of patients with resected non-small cell lung cancer: a multicenter prospective study. *Ann Thorac Surg* 2003; 76: 194–201. DOI: 10.1016/s0003-4975(03)00130-9
- Горбунова Т.В., Поляков В.Г., Серебрякова И.Н. и др. Сравнительный анализ субпопуляционного состава лимфоцитов костного мозга у детей при мелкоклеточных саркомах. *Иммунология*. 2012; 33 (1): 37–44. [Gorbunova T.V., Polyakov V.G., Serebriakova I.N. et al. Sravnitel'nyy analiz subpopulatsionnogo sostava limfotsitov kostnogo mozga u detey pri melkokletochnykh sarkomakh. *Immunologia*. 2012; 33 (1): 37–44 (in Russian).]
- Feuerer M, Rocha M, Bai L. Enrichment of memory T cells and other profound immunological changes in the bone marrow from untreated breast cancer patients. *Int J Cancer* 2001; 92 (1): 96–105.
- Solomayer EF, Feuerer M, Bai L et al. Influence of adjuvant hormone therapy and chemotherapy on the immune system analysed in the bone marrow of patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9 (1): 174–80.
- Мкртчян В.А., Воронников И.К., Чернышева О.А. и др. Взаимосвязь между NK-клетками костного мозга больных раком молочной железы и биологическими особенностями опухоли и эритропоэзом. *Онкогинекология*. 2019; 3: 4–13. [Mkrtychyan V.A., Voronnikov I.K., Chernysheva O.A. et al. Vzaimosv'yaz' mezhdu NK-kletkami kostnogo mozga bol'nykh rakom molochnoy zhelezy i biologicheskimi osobennostyami opukholi i eritropoezom. *Onkoginekologiya*. 2019; 3: 4–13 (in Russian).]
- Rietdorf S, Wikman H, Pantel K. Biological relevance of disseminated tumor cells in cancer patients. *Int J Cancer* 2008; 123 (9): 1991–2006. DOI: 10.1002/ijc.23825
- Pantel K, Izbicki JR, Angstwurm M et al. Immunocytological detection of bone marrow micrometastasis in operable non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1993; 53: 1027–31.
- Capietto AH, Faccio R. Immune regulation of bone metastasis. *Bonekey Rep* 2014; 3: 600. DOI: 10.1038/bonekey.2014.95
- Buchan SL, Rogel A, Al-Shamkhani A. The immunobiology of CD27 and OX40 and their potential as targets for cancer immunotherapy. *Blood* 2018; 131 (1): 39–48. DOI: 10.1182/blood-2017-07-741025
- DeBarros A, Chaves-Ferreira M, d'Orey F et al. CD70-CD27 interactions provide survival and proliferative signals that regulate T cell receptor-driven activation of human peripheral blood lymphocytes. *Eur J Immunol* 2011; 41 (1): 195–201. DOI: 10.1002/eji.201040905
- Mahnke YD, Brodie TM, Sallusto F et al. The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets. *Eur J Immunol* 2013; 43 (11): 2797–809. DOI: 10.1002/eji.201343751
- Тупицын Н.Н., Джуманазаров Т.М., Палладина А.Д. и др. Иммунологические показатели костного мозга больных немелкоклеточным раком легкого. *Рос. биотерапевт. журн.* 2020; 2.
- [Tupitsyn N.N., Dzhumanazarov T.M., Palladina A.D. et al. Immunologicheskie pokazateli kostnogo mozga bol'nykh nemelkokletochnym rakom legkogo. *Ros. bioterapevtich. zhurn.* 2020; 2 (in Russian).]
- Burns HA, Infante JR, Ansell SM et al. Safety and activity of Varilumab, a Novel and First-in-Class Agonist anti-CD27 antibody, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2017; 35 (18): 2028–36. DOI: 10.1200/JCO.2016.70.1508

Информация об авторах / Information about the authors

Джуманазаров Темирбек Матчинович – аспирант онкологического отделения хирургических методов лечения (торакальная онкология) НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0001-5029-1406

Чулкова Светлана Васильевна – канд. мед. наук, доц., ст. науч. сотр. лаб. иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», доц. каф. онкологии и лучевой терапии ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». E-mail: chulkova@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4412-5019

Тупицын Николай Николаевич – д-р мед. наук, проф., рук. лаб. иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0003-3966-128X

Чернышева Ольга Алексеевна – канд. мед. наук, доц., ст. науч. сотр. лаб. иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Аллахвердиев Ариф Керимович – д-р мед. наук, проф., зав. отд. торакоабдоминальной хирургии ГБУЗ «МКНЦ им. А.С. Логинова», проф. каф. онкологии и паллиативной медицины им. акад. А.И. Савицкого ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0001-8378-2738

Палладина Александра Дмитриевна – врач, лаб. иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Купрышина Наталья Александровна – канд. мед. наук, доц., ст. науч. сотр. лаб. иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Колбаскина Ольга Павловна – канд. мед. наук, доц., науч. сотр. лаб. иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0001-8493-9012

Кононец Павел Вячеславович – канд. мед. наук, зам. дир. по научной и лечебной работе, дир. НИИ клинической онкологии им. акад. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0003-4744-6141

Ахмедов Бахром Бахтиярович – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. онкологического отделения хирургических методов лечения (торакальная онкология) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0002-4482-7187

Герасимов Сергей Семенович – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. онкологического отделения хирургических методов лечения (торакальная онкология) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0002-0833-6452

Temirbek M. Djumanazarov – Graduate Student, Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: 0000-0001-5029-1406

Svetlana V. Chulkova – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Pirogov Russian National Research Medical University. E-mail: chulkova@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4412-5019

Nikolay N. Tupitsyn – D. Sci. (Med.), Prof., Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: 0000-0003-3966-128X

Olga A. Chernysheva – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology

Arif K. Allahverdiev – D. Sci. (Med.), Prof., Loginov Moscow Clinical Scientific and Practical Center, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. ORCID: 0000-0001-8378-2738

Alexandra D. Palladina – physician, Blokhin National Medical Research Center of Oncology

Natalya A. Kupryshina – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology

Olga P. Kolbatskaya – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: 0000-0001-8493-9012

Pavel V. Kononetz – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: 0000-0003-4744-6141

Bakhrom B. Akhmedov – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: 0000-0002-4482-7187

Sergey S. Gerasimov – D. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: 0000-0002-0833-6452

Статья поступила в редакцию / The article received: 30.04.2020

Статья принята к печати / The article approved for publication: 16.09.2020

ДОКАЗАННАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ²:

- Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ)/ мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ)²
- Рецидивирующая/рефрактерная форма мантийноклеточной лимфомы (р/р МКЛ)²

УВЕРЕННОСТЬ
НА ВСЕМ ПУТИ

90%

СНИЖЕНИЕ РИСКА
ПРОГРЕССИРОВАНИЯ
ЗАБОЛЕВАНИЯ ИЛИ СМЕРТИ
В ПЕРВОЙ ЛИНИИ ТЕРАПИИ ХЛЛ¹

КАЛКВЕНС® + обинутузумаб
в сравнении с обинутузумаб + хлорамбуцил*
ОР=0,10 (ДИ 95%: 0,06-0,17), p<0,0001

* Медиана выживаемости без прогрессирования (ВБП) не была достигнута при применении комбинации препаратов КАЛКВЕНС® + обинутузумаб в сравнении с 22,6 месяца (ДИ 95%: 20-28) при применении комбинации обинутузумаб + хлорамбуцил.²

ДИ – достоверный интервал, ОР – относительный риск.

1. Jeff P. Sharman et al. Acalabrutinib with or without obinutuzumab versus chlorambucil and obinutuzumab in treatment-naïve chronic lymphocytic leukemia: (ELEVATE TN): a randomised, controlled, phase 3 trial. Lancet 2020; 395: 1278-91.
2. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Калквенс® (акалабрутиниб). Регистрационное удостоверение ЛП-006172 от 16.04.2020.

Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Калквенс® (акалабрутиниб). Регистрационный номер: ЛП - 006172 от 16.04.2020. Торговое наименование: Калквенс®. Международное непатентованное наименование: акалабрутиниб. Лекарственная форма: капсулы. Показания к применению: хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ); мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ) у взрослых пациентов; мантийноклеточная лимфома (МКЛ) у взрослых пациентов, которые получили, по крайней мере, одну линию терапии. Противопоказания: повышенная чувствительность к акалабрутинибу или вспомогательным веществам, входящим в состав препарата; детский возраст до 18 лет. С осторожностью: беременность и период грудного вскармливания, пациенты с нарушением функции печени тяжелой степени тяжести, пациенты с нарушением функции почек тяжелой степени тяжести, а также пациенты, которым требуется проведение диализа. Способ применения и дозы: Хронический лимфоцитарный лейкоз/мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома: 100 мг (1 капсула) 2 раза в сутки в виде монотерапии или в комбинации с обинутузумабом. Мантийноклеточная лимфома: 100 мг (1 капсула) 2 раза в сутки. Интервал между приемами доз должен составлять примерно 12 часов. Капсулы следует проглатывать целиком, запивая водой, приблизительно в одно и то же время суток, независимо от приема пищи. Рекомендуется продолжать терапию до прогрессирования заболевания или развития непереносимой токсичности. Побочное действие. Наиболее частыми нежелательными лекарственными реакциями (≥ 20%) различной степени тяжести, отмеченными у пациентов, получавших акалабрутиниб, были инфекции, головная боль, диарея, кровоподтеки, боль в мышцах и костях, тошнота, утомляемость и сыпь. Наиболее частыми (≥ 5%) нежелательными лекарственными реакциями ≥ 3 степени тяжести были инфекции (17,6%), нейтропения (14,2%) и анемия (7,8%). Особые группы пациентов. У пациентов в возрасте 65 лет и старше не было отмечено клинически значимых отличий эффективности и безопасности по сравнению с пациентами более молодого возраста. Нарушение функции почек. Не требуется коррекция дозы при применении у пациентов с нарушением функции почек от легкой до средней степени тяжести. Фармакокинетика и безопасность препарата Калквенс® у пациентов с нарушением функции почек тяжелой степени (СКФ менее 29 мл/мин/1,73 м²), а также пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности не изучались. Нарушение функции печени. Пациентам с нарушением функции печени от легкой до умеренной степени тяжести коррекция дозы не требуется. Применение препарата Калквенс® у пациентов с нарушением функции печени тяжелой степени не рекомендуется. Тяжелые сердечно-сосудистые заболевания. Пациенты с тяжелыми сердечно-сосудистыми заболеваниями не включались в клинические исследования препарата Калквенс®. Перед назначением препарата ознакомьтесь, пожалуйста, с полной инструкцией по медицинскому применению. Дальнейшая информация предоставляется по требованию: ООО «АстраЗенка Фармасыюткалз», Российская Федерация, 123112, Москва, 1-й Красногвардейский пр-д, д. 21, стр. 1, тел.: +7 (495) 799 56 99, факс: +7 (495) 799 56 98. Дата утверждения – 16.04.2020. Материал предназначен для специалистов здравоохранения. Имеются противопоказания. Для получения дополнительной информации ознакомьтесь с полной инструкцией по медицинскому применению.

Если Вам стало известно о нежелательной реакции при использовании лекарственного препарата компании «АстраЗенка», пожалуйста, сообщите эту информацию в медицинский отдел компании. Вы можете написать нам по электронной почте Safety.Russia@astrazeneca.com, заполнить веб-форму: <https://aereporting.astrazeneca.com/> или связаться с нами по телефону 8 (495) 799-56-99, доб. 2580.

ООО «АстраЗенка Фармасыюткалз»
Российская Федерация, 123112, Москва
1-й Красногвардейский пр-д, д. 21, стр. 1
Телефон: +7 (495) 799 56 99
факс: +7 (495) 799 56 98
www.astrazeneca.ru

CAL_RU-7556. Дата одобрения 17.06.2020.
Дата истечения 17.06.2022.

AstraZeneca