

© И. Н. Михайлова, 1998
УДК 616.155.392.8-036.12

И. Н. Михайлова
(Участник конкурса)

КЛИНИКО-ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЛАСТНОГО КРИЗА ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА

НИИ экспериментальной диагностики
и терапии опухолей, ГНЦ РАМН

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) — клональное миелопролиферативное заболевание, характеризующееся общим происхождением всей лейкозной популяции из неопластически трансформированной стволовой клетки, достаточно однородной клинической картиной, ответом на стандартную химиотерапию в хронической фазе и неуклонным прогрессированием с развитием фазы бластной трансформации (бластный криз — БК) [7]. С помощью цитогенетических исследований показана моноклональная природа лейкозной популяции в хронической фазе и «поликлональная» — в стадии БК [2]. Внедрение в практику научных исследований моноклональных антител к поверхностным маркерам различных клеточных линий [1] позволило конкретизировать понятие «поликлональности» (гетерогенности) БК и выделить различные его варианты: лимфоидный, миелоидный, эритроидный, мегакариоцитарный и др. [1, 8]. К настоящему времени в литературе обсуждается вопрос о клинической характеристике этих вариантов и прогностической значимости их идентификации [4]. Предпринимаются попытки различных подходов к лечению [5].

Клинические исследования по данной проблеме немногочисленны и, как правило, касаются небольшого числа наблюдений [6], а потому не дают оснований для обобщенного суждения. В отечественной литературе подобные исследования единичны [1—3].

Целью настоящей работы было определение диагностической и прогностической значимости иммунологического фенотипа бластных клеток в клиническом течении и ответе на лечение БК ХМЛ.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 54 больных БК ХМЛ. Среди них было 24 женщины и 30 мужчин в возрасте от 16 до 75 лет (средний возраст 46,5 мес).

Диагноз БК ХМЛ устанавливали при содержании в крови и/или в костном мозге бластных клеток не менее 30%, при типичной клинико-гематологической картине (резистентность к успешно проводимой в хронической фазе (ХФ) химиотерапии, увеличение опухолевой массы, неинфекционная лихорадка, оссалгия и артралгия, анемия, тромбоцитопения или гипертромбоцитоз).

При оценке результатов лечения БК ХМЛ использованы стандартные критерии ответа [4—6].

1. Полная ремиссия: исчезновение бластов из крови с нормализацией гемограммы, уменьшение количества бластов в пунктате костного мозга до уровня менее 5% или возврат в ХФ, исчезновение общих симптомов (лихорадка, ночные поты и др.).

2. Частичная ремиссия: снижение количества лейкоцитов в крови до нормального уровня и количества бластов до уровня менее 15%. Указанные критерии считали правомочными, если они удерживались в течение не менее 4 нед от их регистрации. Длительность ремиссии исчисляли от регистрации ответа до рецидива, выживаемость — от начала химиотерапии по поводу БК до летального исхода.

Для иммунофенотипирования бластных клеток больных с БК ХМЛ использовали панель моноклональных антител к дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека, позволяющих полностью охарактеризовать иммунологический фенотип клеток, находящихся на всех этапах дифференцировки гемопоэтических клеток — от примитивных предшественников до зрелых форм.

Экспрессию антигенов на бластных клетках больных с БК ХМЛ учитывали с помощью непрямой реакции поверхностной иммуофлюоресценции на цитофлюориметре FACSscan («Beckton Dickinson»). Каждый маркер считали диагностически значимым, если он выявлялся в более 20% исследуемых клеток.

В работе использованы следующие цитохимические методы исследования: определение мукополисахаридов (PAS-реакция) по Мас-

I. N. Mikhailova
(Competition participant)

CLINICAL AND IMMUNOPHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF BLAST CRISIS IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Hematology Research Center, RAMS

Chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal myeloproliferative disease characterized by common origin of the whole leukemic population from a neoplastically transformed stem cell, rather homogeneous clinical pattern, response to standard chemotherapy in chronic phase and continuous progression with a blast transformation phase (blast crisis, BC) [7]. Cytogenetic study demonstrated the leukemia population to be monoclonal in the chronic phase and "polyclonal" in the BC phase [4]. The use of monoclonal antibodies to surface markers of various cell lines [1] allowed a more concrete definition of BC "polyclonal" character (heterogeneity) and BC division into lymphoid, myeloid, erythroid, megakaryocytic etc. types [1,8]. Clinical characterization of these types and prognostic significance of their identification are currently under discussion in the literature [4]. Various treatment approaches are being attempted [5].

Few clinical studies of this problem have been reported with very few cases involved [6] which makes impossible general judgment. There are several similar reports in the Russian literature [1-3].

The purpose of this study was to evaluate diagnostic and prognostic significance of blast immunophenotyping as to clinical course and response to treatment of patients with BC of CML.

Materials and Methods. The study was performed in 54 patients (24 females and 30 males) with CML BC of age ranging from 16 to 75 years (median 46.5 months).

Diagnosis of CML BC was based on at least 30% of blasts in blood and/or bone marrow, typical clinical and hematology patterns (resistance to previous chemotherapy (CT), increasing total tumor burden, non-infectious fever, osalgia and arthralgia, anemia, thrombocytopenia or hyperthrombocytosis).

CML BC treatment results were assessed by standard response criteria cited in [4-6], as follows:

1. Complete response: disappearance of blood blasts and normalization of hemogram, decrease in bone marrow blast count below 5% or return to chronic phase, disappearance of general symptoms (fever, night sweats, etc.).

2. Partial response: decrease in blood leukocyte count to normal and in blast count below 15%.

These criteria should be maintained at least 4 weeks from onset. Response duration was time from response detection till relapse. Survival duration was time from start of chemotherapy for BC till death.

Blast phenotyping was performed using a panel of monoclonal antibodies to human leukocyte differentiation antigens that provided complete characterization of hemopoietic cell immunological phenotype at every differentiation stage from primitive progenitors to mature forms.

Antigen expression on blasts from patients with CML BC was studied by reactivity in indirect surface immunofluorescence test using a FACSscan cytometer (Beckton Dickinson). A marker was considered diagnostically significant if it was present in more than 20% of cells studied.

The following cytochemical tests were used in the study: MacManus mucopolysaccharide determination (PAS), Hayhoe et al. phospholipid determination using sudan black B, Hayhoe et al. measurement of α -naphthyl acetate esterase activity.

Cytochemical findings were assessed by reaction intensity. A test was considered positive if at least 10% of the cells were detected.

Since non-parametric characteristics were studied statistical analysis was performed by the Wilcoxon non-parametric test using the SAS program package, correlation significance was evaluated by non-parametric Spearman test.

Manus, фосфолипидов по Науное и соавт. с применением судана черного Б, активности α -нафтилацетатэстеразы по Науное и соавт. Результаты цитохимических реакций оценивали по степени интенсивности реакций. Реакция считалась положительной при выявлении не менее чем 10% клеток.

Поскольку в работе исследованы непараметрические показатели, анализ проводили по программе «Сравнение медианы в группах с помощью непараметрического критерия Wilcoxon» (использован пакет программ SAS), значимость корреляций рассчитана с использованием непараметрического критерия Спирмена.

Результаты и обсуждение. Иммунофенотипирование бластных клеток позволило выделить группы больных с БК ХМЛ, которые были затем охарактеризованы цитохимически и клинически (табл. 1).

Лимфоидный вариант диагностирован у 13 (24,1%) больных. Во всех 13 случаях был выявлен поверхностный маркер CD10, кроме того, у 3 из 6 тестированных — CD19, у 2 из 5 тестированных — CD22 и у 8 из 9 — HLA-DR. Т-клеточный маркер CD5 не был выявлен ни у одного больного. Миелоидные маркеры на клетках больных данной группы отсутствовали. Цитохимические характеристики в бластах 11 из 12 тестированных больных полностью отражали лимфоидный тип энергетического метаболизма (PAS-положительная реакция в гранулярной форме) и у 1 больного все реакции были отрицательными. Клиническая картина, помимо общих для БК симптомов и признаков при лимфоидном варианте, характеризовалась частым отсутствием предшествующей фазы акселерации (ФА), спленомегалии (77%) и гепатомегалии (76%). В крови отмечался невысокий лейкоцитоз ($\pm 48,0 \cdot 10^9/\text{л}$), бластемия ($\pm 45\%$) и тромбоцитопения ($\pm 80 \cdot 10^9/\text{л}$). Степень анемизации была невысокой ($\pm 110 \text{ г/л}$). У 3 из 13 больных в финале развилась нейтролейкемия (менингеальная форма) и у 2 — увеличение периферических лимфоузлов. Продолжительность БК составила от 1 до 18 мес (± 8 мес), общая длительность заболевания — от 17 до 140 мес (± 37 мес) (табл. 2).

Выявлено клинико-гематологическое значение экспрессии лимфоидных антигенов CD10 и CD19. При экспрессии этих антигенов достоверно реже встречалась гепато- и спленомегалия; был нормальный уровень гемоглобина; течение заболевания характеризовалось отсутствием фазы акселерации и достоверно более длительной медианой бластного криза ($p < 0,005$).

Миелоидный вариант диагностирован у 13 (24,1%) больных. У 5 из 12 тестированных лиц на поверхности бластных клеток обнаружен антиген CD15, у 9 из 11 — CD11b и у 6 из 10 — HLA-DR. Лимфоидные антигены во всех случаях практически отсутствовали. Цитохимический анализ позволил подтвердить миелоидную направленность (в том числе миеломоноцитарную или моноцитарную) дифференцировки лишь у 6 из 11 обследованных больных; в 3 случаях все цитохимические реакции (гликоген, миелопероксидаза, липиды и неспецифическая эстераза) были отрицательными, что характеризовало клетки как недифференцированные, в 2 случаях были положительные реакции только на гликоген.

В клинической картине заболевания в отличие от лимфоидного варианта БК ФА отсутствовала лишь у 23% больных, спленомегалия и гепатомегалия — у 8%. Гематологические параметры характеризовались низким уровнем гемоглобина ($\pm 97 \text{ г/л}$), нормальным уровнем тромбоцитов ($\pm 166,0 \cdot 10^9/\text{л}$). Количества лейкоцитов ($\pm 12,0 \cdot 10^9/\text{л}$) и бластов было невысоким ($\pm 37\%$). Ни у одного больного не обнаружено экстрамедуллярных (внеселезеночных) лейкоэмических очагов. Продолжительность БК составила от 1 до 14 мес (± 5 мес), общая длительность заболевания — от 6 до 78 мес (± 31 мес). Учитывая, что моноклональные антитела HAE-9 и HAE-3 выявляют антигены эритробластов, которые принадлежат к миелоидной линии дифференцировки, при анализе клинической картины двое больных, у которых бластные клетки реагировали с антителами HAE-9 и HAE-3, были включены в группу миелоидного варианта (см. табл. 2).

Смешанный вариант БК в наших наблюдениях установлен у 12 (22,2%) больных на основании выявления в циркулирующей бластной популяции клеток как с лимфоидной, так и с миелоидной (в том числе моноцитарной и эритроидной) направленностью дифференцировки по данным мембранного иммунофенотипического анализа.

При сопоставлении данных мембранного иммунофенотипического исследования с результатами цитохимического анализа отмечено, что последний не отражал в полной мере гетерогенность лейкоэмической популяции. Чаще всего это касалось лимфоидной субпопуляции, которая в 7 из тестированных случаев не обнаруживалась при цитохимическом исследовании, тогда как отчетливо выявлялась при иммунофенотипировании бластов.

Таблица 1

Table 1

Иммунофенотипические варианты БК ХМЛ CML BC immunophenotypes

Иммуно-фенотипический вариант	Число больных		Иммунологический фенотип бластных клеток
	абс.	%	
Примитивный Primitive	5	9,3	CD34
Лимфоидный Lymphoid	13	24,1	CD34, CD10, CD19, CD 22, CD5
Миелоидный Myeloid	13	24,1	CD34, CD15, CD11b, CD 13, CD14
Эритроидный Erythroid	2	3,7	CD34, HAE-9, HAE-3
Смешанный Mixed	12	22,2	CD34, CD10, CD19 CD22, CD15, CD11b CD13, CD14
Недифференцированный Undifferentiated	9	16,7	
Immunophenotypes	No.	%	Blast immunophenotype
	Patients		

Results and Discussion. Three groups of patients with CML BC were defined basing on the blast cell immunophenotyping that were further assessed as to cytochemical and clinical characteristics (table 1).

Lymphoid type was identified in 13 (24.1%) patients. All the 13 cases presented with surface marker CD10, 3 of 6 tested cases had CD19, 2 of 5 had CD22 and 8 of 9 had HLA-DR. The T-cell marker CD5 was not found in any of the cases. There were no myeloid markers on cells from this group. Blast cytochemical characteristics in 11 of 12 tested cases completely reflected lymphoid energy metabolism type (PAS-positive granular forms) and in 1 case all tests were negative. The patients' clinical pattern, besides symptoms and signs common for BC, was characterized by frequent absence of previous acceleration phase (AP), splenomegaly (77%) and hepatomegaly (76%). Blood profile demonstrated relatively mild leukocytosis (Me $48.0 \cdot 10^9/\text{l}$), blastemia (Me 45%) and thrombopenia (Me $80 \cdot 10^9/\text{l}$). Anemia was mild (Me 110 g/l). 3 of the 13 cases finally developed neuroleukemia (meningeal type) and 2 presented with peripheral lymph node swelling. BC duration was 1 to 18 months (Me 8 months), total disease duration was 17 to 140 months (Me 37 months) (table 2).

Expression of lymphoid antigens CD10 and CD19 had the following clinical and hematological meaning. CD10- and CD19-positive cases presented with hepato- and splenomegaly significantly less frequently, had normal hemoglobin, no AP and significantly longer BC median ($p < 0,005$).

Myeloid type was diagnosed in 13 (24.1%) patients. Blast surface CD15 was found in 5 of 12, CD11b in 9 of 11, HLA-DR in 6 of 10 tested cases. There were practically no lymphoid antigens in any of the cases. Cytochemical findings confirmed myeloid (including myelomonocytic or monocytic) trend of differentiation in 6 of 11 cases; all cytochemical tests (glycogen, myeloperoxidase, lipids, non-specific esterase) were negative in 3 cases which rendered all cell undifferentiated, 2 cases were positive for glycogen only.

Unlike the lymphoid type, AP was absent only in 23%, splenomegaly and hepatomegaly in 8% of the cases. The patients presented with low hemoglobin (Me 97 g/l), normal platelet count (Me $166.0 \cdot 10^9/\text{l}$). Leukocyte (Me $12.9 \cdot 10^9/\text{l}$) and blast (37%) counts were not high. None of the cases had extramedullary (extrasplenic) leukemia foci. BC duration was 1 to 14 months (Me 5 months), total disease

Таблица 2

Table 2

Сравнительная характеристика клинко-гематологических показателей вариантов БК ХМЛ (М ± m)
Comparison of clinical and hematological characteristics with respect to CML BC types (median)

Гематологические показатели	Вариант бластного криза				недифференцированный (n=9)
	лимфоидный (n=13)	миелоидный (n=15)	смешанный (n=12)	примитивный (n=5)	
Селезенка, см Spleen, cm	0—25 2	1—25* 12	0—12 3	10—30* 25	2—25* 12
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/l	77—130 110	40—133 97	71—140 101	60—94 76*	70—140 90
Лейкоциты, · 10 ⁹ /л Leukocytes, x 10 ⁹ /l	21—190 48	3—212 12	2—140 18	5—180 17	9—82 18
Бласты, % Blasts, %	30—80 45	30—90 37	30—80 44	57—95 78	45—77 55
Тромбоциты, · 10 ⁹ /л Platelets, x 10 ⁹ /l	4—300 80	4—576 166	10—1000 83	60—1000 650	50—450 120
Продолжительность ХФ, мес Chronic phase, mo.	0—136 30	0—78 25	0—89 35	31—192 41	7—188 42
Продолжительность ФА, мес AP, mo.	0—13 0	0—10 3*	0—16 5*	1—27 8*	0—14 5*
Продолжительность БК, мес BC, mo.	1—17 8	1—14 5	2—9 5	1—9 2	1—7 3
Продолжительность жизни, мес Life time, mo.	37	31	51	62	55
Hematology	Lymphoid BC	Myeloid BC	Mixed BC	Primitive BC	Undifferentiated BC
	BC types				

* $p < 0,05$ по сравнению с лимфоидным БК.

* $p < 0.05$ as compared to lymphoid BC.

В 3 случаях все основные цитохимические реакции были отрицательными, тогда как исследование поверхностных мембранных антигенов обнаружило достаточно высокий процент ($> 20\%$) клеток, несущих лимфоидные, миелоидные и моноцитарные антигены.

Клиническая характеристика больных этой группы не выделяется какими-либо особенностями от вышеописанных вариантов. У 3 (25%) из 12 больных отсутствовала ФА, сплено- и гепатомегалия отмечена у 9 и 8 больных (75 и 66,6% соответственно). Экстрамедулярные (селезеночные) и лейкоэмические очаги не отмечались. Уровни гемоглобина и количество тромбоцитов умеренно снижены (± 101 г/л и $82,5 \cdot 10^9$ /л). Лейкоциты — в большинстве случаев на сублейкемическом, иногда на нормальном уровне ($\pm 17,5 \cdot 10^9$ /л), бластемия в пределах 30—73% ($\pm 42,5\%$). Продолжительность БК составляла от 2 до 9 мес (± 5 мес), общая продолжительность заболевания — от 7 до 101 мес (± 51 мес) (см. табл. 2).

Примитивный вариант выделен на основании выявления в крови 5 (9,3%) больных от 23 до 80% (48,8%) бластных клеток, экспрессирующих CD34-антиген, от 6 до 51% HLA-DR II класса и CD33- CD13- CD14- CD15- CD7- CD38- CD45RA, что соответствует фенотипу примитивной стволовой клетки; лимфоидные и миелоидные маркеры практически отсутствовали. Обращает на себя внимание тот факт, что у 3 из этих 5 больных при исследовании цитохимических маркеров бласты были оценены как миелоидные (PAS-положительная реакция в диффузной форме в 18—100% клеток) или миеломоноцитоидные (положительная реакция на неспецифическую эстеразу, подавляемая фтористым натрием, наличие телец Ауэра).

Клиническая картина заболевания наряду с выраженными общими симптомами интоксикации характеризовалась постоянной предшествующей ФА (± 8 мес), быстротекущим БК (± 2 мес) и довольно продолжительными общими сроками заболевания (± 62 мес) за счет длительной ХФ (± 41 мес). У всех больных была выраженная спленомегалия (± 25 см), умеренная гепатомегалия (± 3 см); экстрамедулярные лейкоэмические очаги (внеселезеночные) отсутствовали.

duration was 6 to 78 months (Me 31 months). As monoclonal antibodies HAE-9 and HAE-3 recognize antigens of erythroblasts belonging to myeloid differentiation lineage, the cases demonstrating reactivity with HAE-9 and HAE-3 were entered in the myeloid group (see table 2).

Mixed BC was diagnosed in 12 (22.2%) patients by the presence of circulating blast population with both lymphoid and myeloid (including myelomonocytic or monocytic) differentiation as discovered by immunophenotyping.

Comparison of membrane immunophenotyping versus cytochemical findings showed that the latter failed to reflect in full leukemic population heterogeneity especially as concerned lymphoid subpopulation which was not found in 7 cases by cytochemical assay while being definitely seen by immunophenotyping techniques.

Three cases had all basic cytochemical tests negative though the study of surface antigens discovered a rather high percentage ($> 20\%$) of cells bearing lymphoid, myeloid and monocytic antigens.

As to clinical presentation these cases were similar to the previous groups. 3 (25%) patients had no AP, 9 and 8 (75 and 66.6%, respectively) patients presented with spleno- and hepatomegaly. There were no extramedullary (extrasplenic) leukemia foci. Hemoglobin and platelet levels were moderately decreased (Me 101 g/l and $82.5 \cdot 10^9$ /l). Leukocyte counts were mainly subleukemic or normal (Me $17.5 \cdot 10^9$ /l), blastemia was within 30-73% (Me 42.5%), total disease duration was 7 to 101 months (Me 51 months) (see table 2).

Five (9.3%) cases had primitive type as defined basing on detection of 23 to 80% (48.8%) of blasts expressing CD34 and 6 to 51% of blasts expressing HLA-DR II, and CD33- CD13- CD14- CD15- CD7- CD38- CD45RA- state, which corresponds to primitive stem cells; there were practically no lymphoid or myeloid markers. Of note that blasts from 3 of the 5 cases were defined by cytochemistry as myeloid (PAS-positive reactivity of 18-100% of the cells in diffuse form) or as myelomonocytic (non-specific esterase positive test, Auer bodies).

В картине крови отмечена выраженная тенденция к анемизации (гемоглобин: ± 76 г/л), высокая степень бластемии ($\pm 78\%$) и наклонность к гипертромбоцитозу: у 3 (60%) из 5 больных количество тромбоцитов превышало $600 \cdot 10^9/\text{л}$ ($\pm 650 \cdot 10^9/\text{л}$) (см. табл. 2).

Недифференцированный вариант БК отмечен у 9 (16,7%) больных, на мембране бластных клеток которых мы не обнаружили значительной экспрессии ни одного из антигенов, идентифицируемых с помощью имеющейся в нашей панели моноклональных антител, кроме HLA-DR, на 5—53% клеток. Вместе с тем в бластах 5 из 8 тестируемых по цитохимическим маркерам обнаружен гликоген (PAS-положительная реакция) на 28—100% бластных клеток в гранулярной форме при отсутствии цитоплазматических маркеров миелоидной линии, у 2 отметили положительную PAS-реакцию в диффузной форме в 28 и 40%, в сочетании с положительной реакцией на миелопероксидазу в 23 и 60% клеток и у 1 больного — положительную реакцию на неспецифическую эстеразу, подавляемую фтористым натрием. Иными словами, в данной группе больных имело место несоответствие мембранных и цитоплазматических маркеров, причем последние оказались более информативными, чем первые.

В клиническом течении данного варианта отмечалась длительная ХФ (± 42 мес) и ФА (± 5 мес) при коротком БК (± 3 мес). В течение заболевания отмечалась склонность к анемии (гемоглобин: ± 90 г/л), спленомегалии (± 12 см) (см. табл. 2).

В продолжение всего периода наблюдения за больными с вышеупомянутыми вариантами БК ХМЛ им проводилась полихимиотерапия, в ходе которой использовали следующие препараты — цитозар, рубомицин, метотрексат, 6-меркаптопурин, преднизолон, циклофосфан, винкристин по схемам 7 + 3, AVAMP, CVAMP, COAP, VCR + PR, POMP и малые дозы цитозара.

Учитывая тяжесть течения при БК, а также практическое отсутствие определенных рекомендаций в современной литературе, лишь при лимфоидном варианте [8] в схемы лечения в большинстве случаев (8 из 12 больных) включали винкристин и преднизолон.

В результате такого анализа показано, что наибольшее число лиц, ответивших на лечение, оказалось в группе больных с лимфоидным вариантом БК — 6 (50%) из 12 больных (1 больной из анализа исключен в связи с ранней смертью на 1-й неделе лечения), из них полной ремиссии достигли 3 (50%) из 6 человек. У всех 6 больных, достигших ремиссий, ведущими препаратами были винкристин + преднизолон. Длительность ремиссий составила от 1 до 8 мес, продолжительность БК до летального исхода — от 9 до 13 мес у лиц, достигших ремиссий. У не ответивших на лечение — от 2 до 3 мес, что указывает на целесообразность достижения ремиссий у больных с лимфоидным вариантом БК (табл. 3).

В числе 15 больных с миелоидным вариантом БК (при оценке результатов лечения сюда включено наравне с 13 больными с миелоидным вариантом еще 2 с эритроидным) ремиссия (полная) наблюдалась только у 1 (6,6%) больного, который получал винкристин + 6-меркаптопурин + метотрексат; ремиссия в этом случае продолжалась 6 мес при общей продолжительности бластного криза 8 мес. У 14 больных, не достигших ремиссий, несмотря на повторные курсы практически всех вышеуказанных схем химиотерапии, длительность БК составила от 1 до 14 мес. Это указывает на плохой прогноз данного варианта БК при использовании общепринятых схем химиотерапии (см. табл. 3).

Из 12 больных со смешанным вариантом БК ремиссии достигнуты у 4 (33,3%) человек, у 3 (75%) из них — полная, при этом у 2 из 3 больных с полной ремиссией в процессе лечения применялись курсы винкристина + преднизолон. Длительность достигнутых ремиссий составила 2—3 мес; продолжительность БК при наличии ремиссий составила 5—9 мес; в случае ее отсутствия бластный криз продолжался 2—8 мес (см. табл. 3).

Примечателен факт, что у всех 8 больных, не ответивших на химиотерапию, при цитохимическом анализе в бластных клетках не было выявлено лимфоидных маркеров, хотя иммунный фенотип таковые включал. У лиц же, ответивших на лечение, лимфоидные маркеры присутствовали как в цитоплазме, так и на поверхности мембран (иммунный фенотип лимфомиеломоноцитарный). Из этого можно заключить, что присутствие в клетках лимфоидных маркеров (на мембране и/или в цитоплазме при смешанном варианте БК) в определенной степени позволяет прогнозировать благоприятный ответ на химиотерапию, включающую комбинацию винкристина с преднизолоном.

Примитивный вариант БК, наблюдавшийся у 5 больных, был полностью резистентным к химиотерапии по схемам 7 + 3, 5 + 2, COAP, POMP. Длительность БК составила от 1 до 9 мес (Me 2 мес). Следует

The patients' clinical pattern besides general intoxication symptoms was characterized by previous AP (Me 8 months), short duration of blast crisis (Me 2 months) and rather long total disease (Me 62 months) due to long lasting chronic phase (Me 41 months). All the cases presented with marked splenomegaly (Me 25 cm), moderate hepatomegaly (Me 3 cm); there were no extramedullary (extrasplenic) leukemia foci. The patients' blood profile demonstrated a marked anemization trend (hemoglobin Me 76 g/l), high-grade blastemia (Me 78%), hyperthrombocytosis tendency: 3 (60%) of the 5 cases had platelet counts greater than $600 \cdot 10^9/\text{l}$ (Me $650 \cdot 10^9/\text{l}$) (see table 2).

Undifferentiated type was found in 9 (16.7%) patients. The patients' blasts expressed no antigens identifiable by the used monoclonal antibody panel except HLA-DR which was found on 5-53% of the cells. Glycogen (PAS-positive test) was found on 28-100% of granular blasts and no myeloid lineage markers were discovered in 5 of 8 tested cases, PAS-positive reactivity was discovered on 28 and 40% of blasts in the diffuse form and myeloperoxidase-positive reactivity in 23 and 60% in 2 cases, positive test for non-specific esterase was detected in 1 case. This means that the patients in question demonstrated discordance of the membrane and cytoplasmic markers with the latter being more informative than the former.

The clinical course was characterized by long lasting chronic phase (Me 42 months) and AP (Me 5 months), and short BC (Me 3 months). There was anemization (hemoglobin Me 90 g/l) and splenomegaly (Me 12 cm) trends (see table 2).

During the study all the CML BC patients received polychemotherapy with cytosar, rubomycin, methotrexate, 6-mercaptopurine, prednisolone, cyclophosphamide, vincristine by 7+3, AVAMP, CVAMP, COAP, VCR+PR, POMP schedules and low-dose cytosar.

Taking into account the severe course of BC as well as practically no clear recommendations in the literature, only patients with lymphoid type (8/12) also received vincristine and prednisolone as recommended in [8].

Response to treatment was the highest in lymphoid BC: 6 (50%) of 12 cases (1 patient died within the first week of treatment and was excluded from the analysis), complete response was detected in 3 (50%) of the 6 cases. All the responders received vincristine and prednisolone as major therapy. Response duration was 1 to 8 months, BC duration till death was 9 to 13 months in the responders and 2 to 3 months in the non-responders which confirms the importance of achieving response in patients with lymphoid BC (table 3).

Of the 15 patients with myeloid BC (13 cases with myeloid and 2 cases with erythroid types) complete response was achieved only in 1 (6.6%) patient receiving vincristine, 6-mercaptopurine, methotrexate therapy, response duration was 6 months, total BC duration was 8 months. The remaining 14 non-responders had BC duration 1 to 14 months in spite of repeated cycles of practically all chemotherapy

Таблица 3

Table 3

Результаты лечения и выживаемость больных с БК ХМЛ
Treatment outcomes and survival of patients with CML BC

Вариант БК	Ремиссия		БК, мес
	абс. число	%	
Лимфоидный Lymphoid	6/12	50	± 8,0
Миелоидный Myeloid	1/15	7	± 5,0
Смешанный Mixed	4/12	33	± 5,0
Недифферен- цированный Primitive	0/9	0	± 3,0
Примитивный Undifferentiated	0/15	0	± 2,0
Общая группа Total	11/53	21	± 4,5
BC type	No.	%	BC, mo.
	Responders		

подчеркнуть, что лимфоидные маркеры у этих 5 больных отсутствовали как на поверхностных мембранах, так и в цитоплазме (см. табл. 3).

При недифференцированном варианте БК ответ на лечение отсутствовал, несмотря на многократные курсы полихимиотерапии, включающие рубомицин, цитозар, спиромицин, метотрексат, циклофосфан. Длительность БК у химиорезистентных больных составила от 1 до 7 мес (см. табл. 3).

Таким образом, предпринятый нами анализ позволил прийти к следующему заключению. Наибольшее клиническое значение имеет выделение из числа всех больных с БК ХМЛ лиц с лимфоидным вариантом, который в наших наблюдениях диагностирован в 24% из 54 случаев. Эти данные сопоставимы с результатами других авторов [5]. Указанный вариант БК во всех случаях был подтвержден с помощью стандартных цитохимических исследований, что свидетельствует о несомненной диагностической ценности последних в общеклинической практике. Нам неизвестны подобные сопоставления в работах других авторов.

Лимфоидный вариант имеет некоторые свойства, отличающие его от других, нелимфоидных вариантов БК: частое отсутствие предшествующей ФА, органомегалии, менее выраженную тенденцию к анемии, склонность к тромбоцитопении, что характеризует в целом меньшую опухолевую массу в организме. Вместе с тем только при лимфоидном БК наблюдали (в отдельных случаях) увеличение периферических лимфоузлов и менингеальную форму нейтролейкоза. Указанные особенности в известной нам литературе не отражены. В соответствии с данными других авторов [5], мы наблюдали наиболее частое достижение ремиссий при лимфоидном варианте БК в случае использования сочетания винкристина и преднизолона или стандартных схем полихимиотерапии, включающих эти 2 препарата. Следует отметить, что хотя длительность БК больше при лимфоидном БК (± 8 мес), чем при других вариантах, в целом продолжительность жизни у этих больных короче (± 37 мес).

С учетом результатов наших исследований, смешанный вариант целесообразно рассматривать, с точки зрения его прогноза, на втором месте после лимфоидного, при этом наиболее перспективными являются случаи смешанного БК, где наряду с выявлением диагностически значимого количества клеток, экспрессирующих «лимфоидные» поверхностные маркеры, выявляются лейкоэмические субпопуляции с соответствующими цитоплазматическими субстанциями.

Все другие варианты БК (миелоидный, эритроидный, примитивный и недифференцированный) оказались практически некурабельными.

Таким образом, иммунофенотипическое исследование наряду с данными цитоморфологического и цитохимического анализа позволяет в достаточной мере полно охарактеризовать популяции бластных клеток в терминальной фазе ХМЛ. Более того, в отдельных вариантах БК ХМЛ возможности этого метода превышают общепринятые методики и результаты, безусловно, должны приниматься во внимание при выборе рациональной тактики лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Барышников А. Ю., Морозова Л. Ф., Волкова М. А. // Гематол. и трансфузиол. — 1985. — № 11. — С. 12—16.
2. Воробьев А. И. Опухолевая прогрессия и некоторые вопросы патологии лейкозов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1968.
3. Куравлева В. В., Фрейдзон В. А., Теодорович В. И. // Лаб. дело. — 1977. — № 2. — С. 76—78.
4. Anger B., Carbonell F., Braunger I. // Blut. — 1988. — Vol. 57. — P. 131—137.
5. Derderian P. M., Kantarijan H. M., Tapaz M. // Amer. J. Med. — 1993. — Vol. 94. — P. 60—74.

schedules. This suggests that myeloid BC has poor prognosis in spite of convenient chemotherapy (see table 3).

Of the 12 patients with mixed BC 4 (33.3%) responded to treatment with 3 (75%) cases demonstrating complete response. These patients received vincristine and prednisolone therapy. Response duration was 2-3 months, BC lasted for 5-9 months in the responders and 2-8 months in the non-responders (see table 3).

All the 8 non-responders to chemotherapy presented with lymphoid markers by immunophenotyping and no such markers by cytochemical analysis. While the responders had the lymphoid markers both in cytoplasm and on cell membranes (lymphomyelomonocytic immunophenotype). Thus the presence of the lymphoid markers (on cell membrane and/or cytoplasm) in mixed BC may be suggestive of better prognosis as to response to chemotherapy including vincristine and prednisolone.

The primitive BC diagnosed in 5 cases was fully resistant to chemotherapy by 7+3, 5+2, COAP, POMP schedules. BC duration was 1 to 9 months (Me 2 months). There were no cell membrane or cytoplasmic lymphoid marker in these cases (see table 3).

All patients with undifferentiated BC failed to respond to multiple polychemotherapy cycles including rubomycin, cytosar, spirobromin, methotrexate, cyclophosphamide. BC duration was 1 to 7 months (see table 3).

The following conclusion may be made basing on our findings. The distinguishing of lymphoid CML BC type (24% of 54 cases) is of most clinical significance. Our findings are in agreement with data of other authors [5]. This BC type was confirmed by standard cytochemical tests in all cases which was indicative of their diagnostic value. We failed to find similar comparisons in the literature.

The lymphoid type has distinctions from non-lymphoid BC such as frequent absence of previous AP, organomegaly, less marked anemia trend, thrombopenia tendency which is characteristic of lower tumor burden in the body. Besides, only (some) cases with lymphoid BC presented with peripheral lymph node swelling and meningeal neuroleukemia. There is no mention of these characteristics in the literature. Like other authors [5] we also observed more frequent response of lymphoid BC cases to vincristine+prednisolone therapy or standard polychemotherapy including these drugs. Of note that patients with lymphoid BC had shorter survival (Me 37 months) with a longer BC phase (Me 8 months).

Basing on our findings the mixed type may be considered the second after lymphoid BC as to prognosis. The most promising are mixed BC cases presenting with both diagnostically significant counts of cells expressing "lymphoid" surface markers and leukemic subpopulations with corresponding cytoplasmic substances.

All the remaining BC types (myeloid, erythroid, primitive and undifferentiated) were practically incurable.

Thus, immunophenotyping together with cytomorphological and cytochemical findings is a good tool to characterize blast populations in terminal CML phase. Moreover, as concerns some CML BC types this method is superior by capacity to common techniques and immunophenotyping findings should be considered in choice of rational treatment.

6. Janossy G., Woodruff R. K., Peppard M. J. // Cancer. — 1979. — Vol. 43. — P. 426—434.
7. Kantarijan H. M., Walters S., Keating M. J. // Ibid. — 1988. — Vol. 62. — P. 672—676.
8. Saikia T., Advani S., das Gupta A. // Leukemia Res. — 1988. — Vol. 12, N 6. — P. 499—506.

Поступила 24.04.97 / Submitted 24.04.97