

МИЕЛОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

MYELOID TUMORS

Молекулярно-генетические маркеры и особенности течения эссенциальной тромбоцитемии

А.А. Жернякова, И.С. Мартынкевич, В.А. Шуваев, Л.Б. Полушкина, М.С. Фоминых, В.Ю. Удальева, И.И. Зотова, Д.И. Шихбабаева, М.Н. Зенина, Н.А. Потихонова, С.В. Волошин, С.С. Бессмельцев, А.В. Чечеткин, К.М. Абдулкадыров

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА», 2-я Советская ул., д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024

Molecular Genetic Markers and Clinical Characteristics of Essential Thrombocythemia

AA Zhernyakova, IS Martynkevich, VA Shuvaev, LB Polushkina, MS Fominykh, VYu Udal'eva, II Zotova, DI Shikhbabaeva, MN Zenina, NA Potikhonova, SV Voloshin, SS Bessmel'tsev, AV Chechetkin, KM Abdulkadyrov

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024

РЕФЕРАТ

Актуальность и цели. Наличие различных молекулярно-генетических маркеров клональности (мутации в генах *JAK2*, *MPL*, *CALR*) или их отсутствие (тройной негативный статус, TN) при эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ) свидетельствуют о биологической гетерогенности заболевания и могут определять различное его течение. Цель — оценить влияние молекулярно-генетических маркеров на особенности клинического течения и прогноз ЭТ.

Методы. Анализированы данные 240 пациентов с ЭТ в возрасте 20–91 год (медиана 58,7 года), наблюдавшихся в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России с 1999 по 2016 г. (медиана наблюдения 37,2 мес.).

Результаты. Носительство мутации *JAK2V617F* (*JAK2+*) имело место у 182 (75,9 %) из 240 пациентов. *CALR*-мутации (*CALR+*) встречались у 30 (12,5 %) из 240 больных: тип 1 (*CALR1+*) — у 13/30 (43,3 %), тип 2 (*CALR2+*) — у 17/30 (56,7 %). *MPL*-мутации (*MPL+*) выявлены лишь у 2 (0,8 %) из 240 пациентов. Ни одна из тестируемых мутаций не обнаруживалась (статус TN) у 26 (10,8 %) из 240 пациентов. В подгруппах *CALR1+* и *CALR2+* отмечались значимо более высокие показатели тромбоцитов на этапе первичной диагностики ЭТ в сравнении с *JAK2+* и TN. Средние значения числа тромбоцитов составили $1252 \times 10^9/\text{л}$ при *CALR2+* и $1079 \times 10^9/\text{л}$ при *CALR1+* vs $841 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,001$; $p = 0,06$) и $775 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,001$; $p = 0,04$) при *JAK2+* и TN соответственно. Тромботические осложнения наблюдались у 50 (27,4 %) из 182 пациентов подгруппы *JAK2+*, у 8 (30,7 %) из 26 — подгруппы TN, у 2 (18,2 %) из 11 — подгруппы *CALR1+*. В подгруппах *CALR2+* и *MPL+* тромботических осложнений не отмечалось ($p < 0,001$). В целом статус *CALR1+* можно охарактеризовать как прогностически наиболее благоприятный (5-летняя общая выживаемость 100 %), а TN — как неблагоприятный (5-летняя общая выживаемость 85 %).

Заключение. Носительство мутаций в гене *CALR* характеризуется более благоприятным прогнозом в сравнении с *JAK2+* и TN, а также снижением риска и частоты

ABSTRACT

Background & Aims. The presence of different molecular genetic markers of clonality (mutations in *JAK2*, *MPL*, *CALR*) or their absence (triple negative status, TN) in essential thrombocythemia (ET) indicates a biological heterogeneity of the disease and can determine its clinical forms. The aim was to evaluate the association of molecular genetic markers with the clinical form and the prognosis of ET.

Materials & Methods. We analyzed the data of 240 patients with ET at the age of 20–91 years (median age 58.7 years), who were observed in the Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology from 1999 to 2016 (median observation period 37.2 months).

Results. The *JAK2V617F* (*JAK2+*) mutation was found in 182 (75.9 %) of 240 patients. *CALR* (*CALR+*) mutations were found in 30 (12.5 %): type 1 (*CALR1+*) mutations in 13/30 (43.3 %) and type 2 (*CALR2+*) in 17/30 (56.7 %). *MPL* (*MPL+*) mutations were found in only 2 (0.8 %) of 240 patients. None of the mutations were detected in 26 (10.8 %) of 240 patients (TN status). Significantly higher platelet counts were observed in *CALR1+* and *CALR2+* subgroups during the primary diagnosis of ET compared with *JAK2+* and TN groups. The mean platelet counts were $1252 \times 10^9/\text{L}$ for *CALR2+* and $1079 \times 10^9/\text{L}$ for *CALR1+* vs $841 \times 10^9/\text{L}$ ($p < 0.001$; $p = 0.06$) and $775 \times 10^9/\text{L}$ ($p < 0.001$; $p = 0.04$) for *JAK2+* and TN, respectively. Thrombosis was diagnosed in 50 (27.4 %) of 182 patients of the *JAK2+* subgroup, in 8 (30.7 %) of the 26 patients of the TN subgroup, and in 2 (18.2 %) of 11 patients of the *CALR1+* subgroup. No thrombosis was found in the *CALR2+* and *MPL+* subgroups ($p < 0.001$). In general, the *CALR1+* status was characterized as the most favorable in terms of prognosis (5-year overall survival rate of 100 %), compared to the least favorable TN status (5-year overall survival rate of 85 %).

Conclusion. Mutations in the *CALR* gene were characterized by a more favorable prognosis in comparison with *JAK2+*

тромботических осложнений, несмотря на более высокий уровень тромбоцитов. TN-статус при ЭТ определяет неблагоприятный прогноз.

Ключевые слова: эссенциальная тромбоцитемия, *CALR*, *JAK2V617F*, *MPL*.

Получено: 26 декабря 2016 г.

Принято в печать: 6 марта 2017 г.

Для переписки: Анастасия Андреевна Жернякова, аспирант, 2-я Советская ул., д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024; тел.: +7(921)343-01-05; e-mail: zhernyakova.a@mail.ru

Для цитирования: Жернякова А.А., Мартынкевич И.С., Шуваев В.А. и др. Молекулярно-генетические маркеры и особенности течения эссенциальной тромбоцитемии. Клиническая онкогематология. 2017;10(3):402–8.

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-402-408

and TN, as well as a decrease in the risk and frequency of thrombosis, despite higher platelet counts. TN-status of ET was associated with unfavorable prognosis.

Keywords: essential thrombocythemia, *CALR*, *JAK2V617F*, *MPL*.

Received: December 26, 2016

Accepted: March 6, 2017

For correspondence: Anastasiya Andreevna Zhernyakova, MD, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024; Tel.: +7(921)343-01-05; e-mail: zhernyakova.a@mail.ru

For citation: Zhernyakova AA, Martynkevich IS, Shuvaev VA, et al. Molecular Genetic Markers and Clinical Characteristics of Essential Thrombocythemia. Clinical oncohematology. 2017;10(3):402–8 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-402-408

ВВЕДЕНИЕ

Эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) — хроническое клональное миелопролиферативное новообразование с неконтролируемой пролиферацией мегакариоцитов. Заболевание характеризуется повышенным числом крупных и гигантских форм мегакариоцитов в костном мозге, тромбоцитозом в крови ($> 450 \times 10^9/\text{л}$) и эпизодами клинических проявлений тромбозов и/или кровотечений [1].

ЭТ развивается в результате трансформации ранних предшественников гемопоэза с нарушением функционирования сигнальных путей, осуществляющих регуляцию клеточного роста, активации, дифференцировки, адгезии и апоптоза. Ключевое звено патогенеза ЭТ — неконтролируемая пролиферация клона морфологически и функционально измененных мегакариоцитов, триггером которой является гиперактивность сигнального пути JAK-STAT. Первоначальная мутация, приводящая к малигнизации гемопоэтической клетки-предшественницы, не установлена. Однако у 50–60 % больных ЭТ определяется соматическая точечная мутация в экзоне 14 гена Янус-киназы JAK2 (*JAK2V617F*) [2–4], выявляемая на уровне полипотентной стволовой кровяной клетки. Данная мутация была впервые описана в 2005 г. [5–7]. Наличие ее обуславливает независимую активацию JAK2 с последующим каскадным фосфорилированием (активированием) белков семейства STAT, отвечающих за пролиферацию и дифференцировку клеток-предшественниц гемопоэза [2, 8].

В ходе дальнейших исследований молекулярного патогенеза ЭТ были выявлены другие соматические мутации, также активирующие сигнальный путь JAK-STAT. В 2006 г. обнаружены мутации в экзоне 10 гена рецептора тромбопоэтина — *MPL* (5–7 % при ЭТ, преимущественно варианты W515K/L) [9, 10], а в 2013 г. — мутации в экзоне 9 гена, кодирующего белок кальретикулин — *CALR* (15–24 % при ЭТ) [11, 12]. Таким образом, в последнее десятилетие благодаря молекулярно-биологическим исследованиям ЭТ из диагноза

исключения превратилась в нозологическую форму с достоверной молекулярно-генетической верификацией в 79–87 % случаев [13, 14]. Отдельно выделяется группа пациентов с ЭТ, у которых не обнаруживается ни одна из трех мутаций — тройной негативный статус (triple-negative, TN). TN-статус составляет около 10–15 % общей популяции пациентов с ЭТ [15–18].

Тот факт, что для ЭТ характерно наличие различных молекулярно-генетических маркеров клональности, влияющих на активацию сигнального пути JAK-STAT, свидетельствует о биологической гетерогенности заболевания [15, 19].

Представляет интерес изучение возможной гетерогенности клинических проявлений ЭТ у больных с различным мутационным статусом, т. е. в зависимости от наличия или отсутствия одного из маркеров клональности: *JAK2V617F*, *MPL*, *CALR*. Выявление связей между носительством патогенетических мутаций либо их отсутствием (TN-статус) и особенностями клинического течения, рисками осложнений позволит уже на этапе первичной диагностики определить группу благоприятного/неблагоприятного прогноза у каждого конкретного пациента. Стратификация пациентов согласно прогностическим группам может способствовать выбору индивидуальной тактики терапии ЭТ.

Цель настоящей работы — оценить влияние молекулярно-генетических маркеров на особенности клинического течения и прогноз ЭТ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Аналізу подвергнуты данные 240 пациентов с ЭТ в возрасте 20–91 год (медиана 58,7 года), наблюдавшихся в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России с 1999 по 2016 г. (медиана наблюдения 37,2 мес.). Мужчин было 62 (25,8 %), женщин — 178 (74,2 %).

Диагноз ЭТ установлен в соответствии с критериями классификации опухолей кровяной и лимфоидной тканей ВОЗ 2008 г. [20, 21].

На этапе диагностики выполняли клинический анализ крови с визуальным подсчетом числа тромбоцитов, цитогенетическое и гистологическое исследования костного мозга. При гистологическом исследовании костного мозга оценивали наличие и степень выраженности фиброза согласно шкале Европейского консенсуса патоморфологов по оценке клеточности и фиброза костного мозга [22]. У всех пациентов проводили определение *JAK2V617F*-статуса методом полимерфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ). При отрицательном результате определяли мутации в кодоне 515 гена *MPL* методом ПЦР-ПДРФ и мутации экзона 9 гена *CALR* методом прямого секвенирования.

На этапе диагностики и в период наблюдения регистрировали симптомы заболевания: слабость, головную боль и головокружения, боль в суставах, эритромелалгию и симптомы, связанные со спленомегалией. Учитывались тромботические и геморрагические осложнения: артериальные и венозные тромбозы, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), острый инфаркт миокарда (ОИМ), эпизоды кровотечений. Риск развития тромбозов оценивался по международной прогностической шкале IPSET-thrombosis. Согласно IPSET-thrombosis, пациенты распределяются в группы низкого, промежуточного и высокого риска по сумме баллов:

- возраст старше 60 лет и наличие сердечно-сосудистых факторов риска (по 1 баллу);
- тромбозы в анамнезе и наличие мутации *JAK2V617F* (по 2 балла) [23].

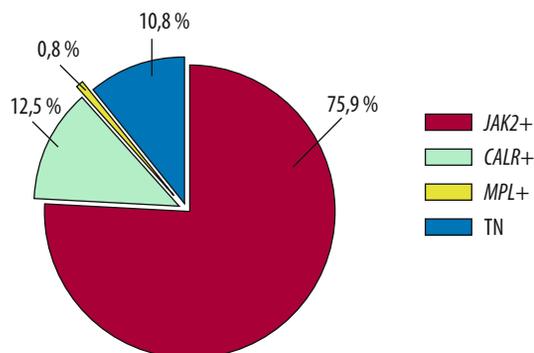


Рис. 1. Частота маркеров клональности у пациентов с эссенциальной тромбоцитемией ($n = 240$)
TN — тройной негативный статус.

Fig. 1. Frequency of clonality markers in patients with essential thrombocythemia ($n = 240$)
TN — triple negative status.

Дата верификации диагноза ЭТ служила точкой отсчета при анализе продолжительности жизни с целью построения кривой общей выживаемости (ОВ) пациентов.

Статистический анализ

Обработка данных и статистический анализ проводились с использованием программ Microsoft Excel 2013 и StatSoft Statistica 10. Статистическая значимость различий оценивалась с помощью метода ANOVA Краскала—Уоллиса, критерия χ^2 с поправкой Йетса. Статистически значимыми считали различия при величине $p < 0,05$. Анализ ОВ проводился посредством построения кривых Каплана—Мейера, различия оценивались с помощью логарифмического рангового теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мутация *JAK2V617F* (*JAK2+*) выявлена у 182 (75,9 %) из 240 пациентов. *CALR*-мутации (*CALR+*) обнаружены у 30 (12,5 %) из 240 больных: тип 1 (*CALR1+*) — у 13 (43,3 %) из 30, тип 2 (*CALR2+*) — у 17 (56,7 %) из 30. Учитывая, что мутация *MPL* была зарегистрирована лишь у 2 (0,8 %) пациентов, сравнительный статистический анализ с этой подгруппой не проводился. TN-статус, когда не выявляется ни один из трех молекулярных маркеров клональности, был у 26 (10,8 %) из 240 больных ЭТ. Распределение пациентов в соответствии с мутационным статусом представлено на рис. 1.

Демографические характеристики и показатели клинического анализа крови ко времени установления диагноза ЭТ у пациентов с различным мутационным статусом представлены в табл. 1.

Значимые различия по полу в исследуемых подгруппах не выявлены ($p > 0,05$). Отмечено преобладание пациентов более молодого возраста в подгруппах *CALR1+* и *CALR2+* в сравнении с подгруппой *JAK2+* ($p = 0,04$; $p = 0,05$). У пациентов с *CALR+* независимо от типа мутации зарегистрированы значимо более высокие показатели уровня тромбоцитов на этапе первичной диагностики ЭТ в сравнении с больными подгрупп *JAK2+* и TN ($p < 0,001$). По другим показателям клинического анализа крови получены различия только при сравнительном анализе уровней гемоглобина между подгруппами *JAK2+* и TN ($p = 0,005$).

Клинические симптомы ЭТ у больных, включенных в настоящее исследование, представлены в табл. 2.

Таблица 1. Характеристика пациентов с различным молекулярно-генетическим статусом эссенциальной тромбоцитемии

Показатель	Молекулярно-генетический статус				
	<i>JAK2+</i> ($n = 182$)	<i>CALR1+</i> ($n = 13$)	<i>CALR2+</i> ($n = 17$)	<i>MPL+</i> ($n = 2$)	TN ($n = 26$)
Медиана (диапазон) возраста, лет	59 (20–91)	48 (26–70)	49 (25–74)	69 (79–59)	51 (26–78)
Соотношение мужчины/женщины, n (%)	51/131 (28/72)	3/10 (23/77)	6/11 (35/65)	0/2 (0/100)	2/24 (8/92)
Медиана (диапазон) длительности наблюдения, годы	3,1 (0,1–22,5)	1,5 (0,5–12,7)	3,8 (0,5–10,6)	3,1 (1,1–5,1)	3,2 (0,2–7,8)
Гемоглобин у мужчин/женщин (среднее/диапазон), г/л	149/140 (110–180/88–169)	149/128 (143–154/100–149)	152/128 (141–171/100–149)	—/114 (—/105–123)	135/133 (111–159/100–159)
Среднее (диапазон) число лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	9,8 (3,7–24,8)	11,0 (3,7–19,2)	8,9 (4,3–18,6)	10,1 (7,1–13,1)	10,8 (5,5–22,4)
Среднее (диапазон) число тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	841 (450–2500)	1086 (515–2067)	1252 (742–2067)	1315 (550–2079)	775 (470–1200)

Таблица 2. Клинические симптомы эссенциальной тромбоцитемии у пациентов с различным молекулярно-генетическим статусом

Симптом	Молекулярно-генетический статус				
	<i>JAK2+</i> (<i>n</i> = 182)	<i>CALR1+</i> (<i>n</i> = 13)	<i>CALR2+</i> (<i>n</i> = 17)	<i>MPL+</i> (<i>n</i> = 2)	TN (<i>n</i> = 26)
Спленомегалия, <i>n</i> (%)	27 (14,8)	3 (23,1)	2 (11,7)	1 (50,0)	2 (7,7)
Головная боль и головокружение, <i>n</i> (%)	24 (13,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (11,7)	3 (11,5)
Эритромелалгия, <i>n</i> (%)	10 (5,5)	0 (0,0)	2 (11,7)	0 (0,0)	3 (11,5)
Слабость, <i>n</i> (%)	46 (25,3)	2 (15,4)	5 (29,4)	1 (50,0)	3 (11,5)
Боль в суставах, <i>n</i> (%)	20 (10,9)	2 (15,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,8)
Кожный зуд, <i>n</i> (%)	6 (3,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (7,7)

Таблица 3. Тромбгеморрагические осложнения у пациентов с различным молекулярно-генетическим статусом эссенциальной тромбоцитемии

Осложнение	Молекулярно-генетический статус				
	<i>JAK2+</i> (<i>n</i> = 182)	<i>CALR1+</i> (<i>n</i> = 13)	<i>CALR2+</i> (<i>n</i> = 17)	<i>MPL+</i> (<i>n</i> = 2)	TN (<i>n</i> = 26)
Артериальные тромбозы, <i>n</i> (%)	17 (9,3)	1 (7,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (11,5)
Венозные тромбозы, <i>n</i> (%)	10 (5,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (7,7)
Геморрагические осложнения, <i>n</i> (%)	7 (3,8)	2 (15,4)	1 (5,9)	0 (0,0)	1 (3,8)
Сердечно-сосудистые осложнения (ОНМК и ОИМ), <i>n</i> (%)	23 (12,6)	1 (7,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (11,5)

Наиболее часто у пациентов всех подгрупп отмечались следующие симптомы:

- слабость: *JAK2+* — у 25,3 % пациентов, *CALR1+* — у 15,4 %, *CALR2+* — у 29,4 %, TN — у 11,5 % ($p = 0,81$);
- головная боль и головокружение: *JAK2+* — у 13,2 % пациентов, *CALR2+* — у 11,7 %, TN — у 11,5 % ($p = 0,39$);

Частота спленомегалии в группах статистически не различалась. Увеличение селезенки имело место при *JAK2+* у 14,8 % пациентов, при *CALR1+* — у 23,1 %, при *CALR2+* — у 11,7 %, при TN — у 7,7 % ($p = 0,34$). Различия по частоте симптомов между группами не были статистически значимыми. У половины пациентов в подгруппах (6 из 13 с *CALR1+*, 88 из 182 с *JAK2+*, 7 из 17 с *CALR2+*, 13 из 26 с TN) клинические симптомы ЭТ при первичном обращении к врачу отсутствовали.

Цитогенетическое исследование костного мозга проведено у 47 пациентов. Комплексные нарушения кариотипа выявлены лишь у 1 больной с *JAK2+* (остальные пациенты были с нормальным кариотипом). Следует отметить, что на этапе первичной диагностики у данной пациентки кариотип также был нормальным, а клональная хромосомная эволюция наблюдалась при терминальном течении ЭТ с исходом в бластный криз.

При гистологическом исследовании костный мозг у 76 (31,7 %) из 240 пациентов был гиперклеточным и характеризовался наличием атипичных мегакариоцитов. У 9 (11,8 %) из 76 больных имели место признаки, соответствующие I степени фиброза по шкале Европейского консенсуса патоморфологов [22].

К осложнениям ЭТ относятся тромбозы и геморрагические эпизоды (артериальные и венозные тромбозы, ОИМ, ОНМК, кровотечения). Частота тромботических и геморрагических осложнений представлена в табл. 3.

ОИМ и ОНМК наблюдались у 12,6 % (23 из 182) пациентов в подгруппе *JAK2+*, у 11,5 % (3 из 26) — в подгруппе TN, у 7,7 % (1 из 13) — в подгруппе *CALR1+*. ОИМ и ОНМК у пациентов с *CALR2+* и *MPL+* не зарегистрированы.

Тромбгеморрагических осложнений не было у пациентов с *MPL+*. В подгруппах *JAK2+* и TN выявлены единичные случаи повторных артериальных и венозных тромбозов в сочетании с ОИМ и ОНМК. У 4 (2,2 %) пациентов с *JAK2+* наряду с венозными тромбозами наблюдались эпизоды ОИМ, у 9 (4,9 %) — ОНМК. В подгруппе TN также были выявлены единичные случаи подобных сочетаний. В подгруппе *CALR2+* тромботических осложнений не зарегистрировано и только у 1 (5,9 %) пациента наблюдались геморрагические проявления. Наибольшее количество эпизодов геморрагических осложнений было зарегистрировано в подгруппах *CALR1+* и *CALR2+* — 21,3 %, тогда как в подгруппах *JAK2+* и TN этот показатель составил 3,8 %.

Распределение пациентов в прогностические группы риска развития тромбозов (шкала IPSET-thrombosis) было следующим.

1. Группу высокого риска составили 119 (65,4 %) из 182 пациентов с *JAK2+*. Остальные 34,6 % (63 из 182) отнесены в группу промежуточного риска.
2. В подгруппах *CALR1+* и *CALR2+* преобладали пациенты с низким риском развития тромбозов — 84,6 (11 из 13) и 88,2 % (15 из 17) соответственно, а больные с промежуточным риском составили 7,7 (1 из 13) и 11,8 % (2 из 17).
3. При TN-статусе риск развития тромбозов оценивался как низкий у 69,2 % (18 из 26) больных, как промежуточный — у 19,2 % (5 из 26). К группе высокого риска отнесены 3 (11,5 %) пациента.
4. В подгруппах *MPL+* 1 пациент был с промежуточным риском развития тромбозов и 1 — с высоким.

В подгруппах с различным молекулярно-генетическим профилем (*JAK2+*, *CALR1+*, *CALR2+*, *MPL+* и TN) медиана ОВ достигнута только при TN-статусе и составила 8 лет. При сравнении показателей ОВ (кривые

Каплана—Мейера, рис. 2) выявлены статистически значимые различия между подгруппами ($p = 0,015$):

- статус *CALR1+* можно охарактеризовать как прогностически наиболее благоприятный, 5-летняя ОВ составила 100 %;
- при *JAK2+* 5-летняя ОВ составила 98 %;
- при *CALR2+* 5-летняя ОВ составила 93 %;
- прогноз при TN-статусе оказался наиболее неблагоприятным с 5-летней ОВ 85 %.

ОБСУЖДЕНИЕ

К настоящему времени доказана патогенетическая роль в развитии ЭТ трех соматических мутаций в генах *JAK2*, *MPL* и *CALR*. Она заключается в активации сигнального пути JAK-STAT с развитием миелопролиферативного клонального процесса [24–26]. Представляет интерес оценка не только биологической гетерогенности заболевания, но и в первую очередь особенностей клинического течения и прогноза ЭТ в зависимости от выявленной соматической мутации или отсутствия всех трех мутаций (TN-статус).

В течение последних 3 лет после открытия мутаций в гене *CALR* появился ряд публикаций, авторы которых пытались выяснить и оценить наличие возможных клинических и прогностических различий ЭТ при носительстве мутаций в генах *JAK2*, *MPL*, *CALR*, а также при TN-статусе [12, 15, 16, 18].

Нашей целью было оценить влияние носительства соматических мутаций либо TN-статуса, характеризующегося отсутствием всех трех мутаций, на особенности клинического течения и прогноз у пациентов с ЭТ, наблюдающихся в РосНИИГТ.

Частота выявления молекулярно-генетических маркеров клональности у больных ЭТ, наблюдающихся в нашем центре, в целом сопоставима с общепопуляционными данными:

- *JAK2V617F* — 75,9 % (62 % [12], 63,9 % [16] и 64,1 % [25]);
- *CALR* — 12,5 % (24 % [12], 22,5 % [16] и 15,5 % [25]);
- TN-статус — 10,8 % (10 % [12, 25] и 16 % [16]);
- *MPL* — 0,8 % (5 % [16, 12]).

Носительство *CALR*-мутаций характерно для пациентов с более высоким числом тромбоцитов ($p < 0,001$). Наряду с этим в ряде публикаций [15, 16, 18] отмечаются одновременно более низкие уровни гемоглобина и лейкоцитов в сравнении с пациентами с *JAK2+*. Однако это не всегда подтверждается другими исследователями [11]. Тем не менее взаимосвязь между носительством мутаций в гене *CALR* и более выраженным тромбоцитозом отмечает большинство авторов [11, 12, 24, 27]. В некоторых работах [15, 16, 18] также были продемонстрированы аналогичные изменения в клиническом анализе крови. Следует отметить, что *CALR*-мутации наиболее часто выявляются у молодых пациентов мужского пола, что не подтверждается результатами проведенного нами исследования.

Кроме того, большинством исследователей признаются меньшие выраженность и спектр клинических симптомов у пациентов с *CALR+* в сравнении с *JAK2+*, что также подтверждается и нашими данными.

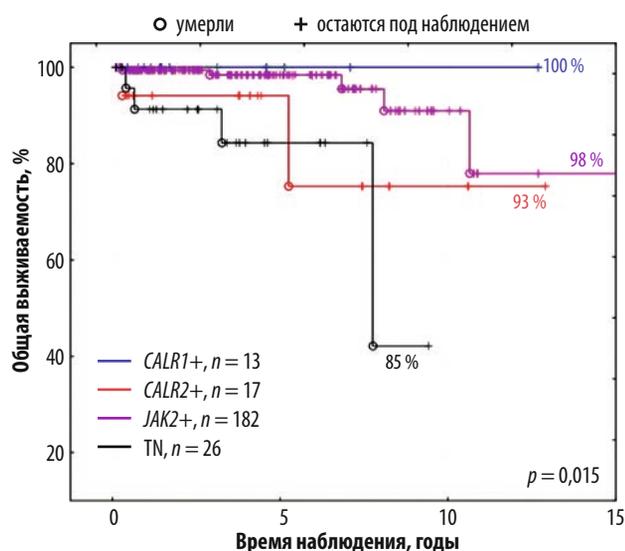


Рис. 2. Общая выживаемость пациентов с эссенциальной тромбоцитемией и различным молекулярно-генетическим статусом (*JAK2+*, *CALR1+*, *CALR2+*, *MPL+* и TN), $n = 240$

TN — тройной негативный статус.

* Статус *MPL+* имел место у 2 пациентов, расчеты не проводились.

Fig. 2. Overall survival of patients with essential thrombocythemia with different molecular genetic status (*JAK2+*, *CALR1+*, *CALR2+*, *MPL+* and TN), $n = 240$

TN — triple negative status.

* 2 patients had *MPL+* status, estimation was not carried out.

Принципиальное значение при определении прогноза имеют осложнения ЭТ, приводящие к инвалидизации пациентов и сокращению срока жизни. Это прежде всего тромбогеморрагические проявления (артериальные и венозные тромбозы, а также кровотечения).

Как известно, мутация *JAK2V617F* рассматривается как один из факторов, увеличивающих риск развития тромбозов, и включена ВОЗ в качестве критерия в шкалу IPSET-thrombosis при ЭТ [23]. По данным ряда авторов [12, 15, 28], при статусе *JAK2+* отмечается значительное повышение частоты тромбозов. Наряду с этим достоверно более высокий уровень тромбоцитоза со средним показателем числа тромбоцитов более $1000 \times 10^9/\text{л}$ при носительстве *CALR*-мутаций не увеличивает риск и не влияет на частоту развития тромбозов. Кроме того, у данной категории пациентов риск тромбозов не увеличивается с возрастом в отличие от носителей мутации *JAK2* [8, 25, 26]. По данным E. Rumi и соавт. [17], риск тромбозов при *JAK2+* в 2 раза выше в сравнении с *CALR+*. В нашем исследовании также отмечалось повышение частоты развития тромбозов у пациентов с *JAK2+* в сравнении с *CALR1+* и *CALR2+* (27,4 vs 9,1 и 0 % соответственно). Взаимосвязь статуса *CALR+* с меньшей частотой тромботических осложнений можно объяснить отсутствием тромбогенного потенциала перестройки в гене *CALR*. В то же время тромбогенный потенциал мутации *JAK2V617F* в настоящее время не вызывает сомнений. Вопрос о возможном тромбогенном эффекте мутаций *CALR* представляется дискуссионным и нуждается в дальнейшем изучении.

В целом у пациентов с *CALR+* зарегистрированы более высокие показатели ОВ в сравнении с *JAK2+* [12]. При анализе собственных данных у пациентов с *JAK2+*

и TN отмечались более низкие показатели ОВ в сравнении с *CALR1+*: 5-летняя ОВ при *CALR1+*, *JAK2+* и TN была 100, 98 и 85 % соответственно. При TN-статусе медиана ОВ составила 8 лет, тогда как во всех других подгруппах она не достигнута ($p = 0,015$).

Данные ОВ в целом не противоречат результатам других исследовательских групп [15, 18, 19, 27], также отмечающих более высокие показатели ОВ при статусе *CALR+* в сравнении с носителями других мутаций. Однако для долгосрочного прогноза продолжительности жизни больных ЭТ при носительстве различных патогенетических мутаций необходим более длительный период наблюдения за пациентами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ЭТ при наличии мутаций в генах *JAK2* и/или *CALR* — биологически, клинически и прогностически различающиеся формы заболевания.

При ЭТ наличие мутации *JAK2V617F* увеличивает риск развития тромбозов. Несмотря на тот факт, что носительство мутаций в гене *CALR* связано с достоверно более выраженным тромбоцитозом (тромбоциты $> 1000 \times 10^9/\text{л}$) [11], риск и частота возникновения тромбозов у данной категории пациентов ниже, чем у больных ЭТ с мутацией *JAK2V617F*. Для пациентов с ЭТ — носителей мутаций в гене *CALR* характерно уменьшение риска и частоты развития тромбозов, а течение заболевания можно характеризовать как индолентное [26, 29].

В большинстве случаев сложности изучения влияния мутаций в гене *MPL* на течение ЭТ связаны с их редкостью. Пациенты с TN-статусом остаются наименее изученной категорией. Прогноз у больных с TN в настоящее время признается как неблагоприятный. Изучение ЭТ следует продолжать с целью выявить и описать новые специфичные молекулярно-генетические маркеры клональности, что может способствовать более глубокому пониманию природы этого злокачественного миелопролиферативного заболевания.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено в рамках НИР «ХМПН-15».

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: А.А. Жернякова, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич, К.М. Абдулкадыров.

Сбор и обработка данных: все авторы.

Предоставление материалов исследования: все авторы.

Анализ и интерпретация данных: А.А. Жернякова, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич.

Подготовка рукописи: А.А. Жернякова, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич, М.С. Фоминых.

Окончательное одобрение рукописи: И.С. Мартынкевич, В.А. Шуваев, В.С. Волошин, К.М. Абдулкадыров.

Административная поддержка: И.С. Мартынкевич, С.С. Бессмельцев, А.В. Четчин, К.М. Абдулкадыров.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Меликян А.Л., Туркина А.Г., Абдулкадыров К.М. и др. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз). Мат-лы II конгресса гематологов (апрель 2014 г.). М., 2014. 81 с. [Melikyan AL, Turkina AG, Abdulkadyrov KM, et al. Clinical recommendations for diagnosis and therapy of Ph-negative myeloproliferative diseases (polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis). II Congress of hematologists. (April, 2014). Moscow; 2014. 81 p. (In Russ)]
2. Абдулкадыров К.М., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. Современные подходы к диагностике и лечению эссенциальной тромбоцитемии: обзор литературы и собственные данные. Клиническая онкогематология. 2015;8(3):235–47. doi: 10.21320/2500-2139-2015-8-3-235-247. [Abdulkadyrov KM, Shuvaev VA, Martynkevich IS. Modern Approaches to Diagnosis and Treatment of Essential Thrombocythemia: Literature Review and Own Experience. Clinical oncohematology. 2015;8(3):235–47. doi: 10.21320/2500-2139-2015-8-3-235-247. (In Russ)]
3. Соколова М.А. Современные представления о «классических» Ph-негативных хронических миелопролиферативных заболеваниях. Клиническая онкогематология. 2010;3(3):235–42. [Sokolova MA. Modern conception of «classic» Ph-negative chronic myeloproliferative disorders. Klinicheskaya onkogematologiya. 2010;3(3):235–42. (In Russ)]
4. Rampal R, Al-Shahrour F, Abdel-Wahab O, et al. Integrated genomic analysis illustrates the central role of JAK-STAT pathway activation in myeloproliferative neoplasm pathogenesis. Blood. 2014;123(22):e123–33. doi: 10.1182/blood-2014-02-554634.
5. Baxter E, Scott L, Campbell P, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet. 2005;365(9464):1054–61. doi: 10.1016/s0140-6736(05)74230-6.
6. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. N Engl J Med. 2005;352(7):1779–90. doi: 10.1056/nejmoa051113.
7. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell. 2005;7(4):387–97. doi: 10.1016/j.ccr.2005.03.023.
8. Petrides P. CMPE 2014 Aktuelle Empfehlungen zu Diagnostik und Therapie Chronisch MyeloProliferativer Erkrankungen. 4. Aufgabe. Munchen; 2014. s. 48.
9. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, et al. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. Blood. 2011;118(7):1723–35. doi: 10.1182/blood-2011-02-292102.
10. Vannucchi A, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Characteristics and clinical correlates of MPL 515W>L/K mutation in essential thrombocythemia. Blood. 2008;112(3):844–47. doi: 10.1182/blood-2008-01-135897.
11. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. N Engl J Med. 2013;369(25):2391–405. Am J Hematol. 2014;89(8):2392–405. doi: 10.1056/nejmoa1312542.
12. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic Mutations of Calreticulin in Myeloproliferative Neoplasms. N Engl J Med. 2013;369(25):2379–90. doi: 10.1056/nejmoa1311347.
13. Lundberg P, Karow A, Nienhold R, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. Blood. 2014;123(14):2220–8. doi: 10.1182/blood-2013-11-537167.
14. Tefferi A, Barbui T. Personalized management of essential thrombocythemia—application of recent evidence to clinical practice. Leukemia. 2013;27(8):1617–20. doi: 10.1038/leu.2013.99.
15. Al Assaf C, Van Obbergh F, Billiet J, et al. Analysis Of Phenotype And Outcome In Essential Thrombocythemia With CALR or JAK2 Mutations. Haematologica. 2015;100(7):893–7. doi: 10.3324/haematol.2014.118299.
16. Chen C, Gau J-P, Chou H-J, et al. Frequencies, clinical characteristics, and outcome of somatic CALR mutations in JAK2-unmutated essential thrombocythemia. Ann Hematol. 2014;93(12):2029–36. doi: 10.1007/s00277-014-2151-8.
17. Rumi E, Pietra D, Ferretti V, et al. JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes. Blood. 2014;123(10):1544–51. doi: 10.1182/blood-2013-11-539098.
18. Labastida-Mercado N, Galindo-Becerra S, Garces-Eisele J, et al. The mutation profile of JAK2, MPL and CALR in Mexican patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. Hematol Oncol Stem Cell Ther. 2015;8(1):16–21. doi: 10.1016/j.hemonc.2014.12.002.
19. Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin: the clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. Blood. 2014;123(24):3714–9. doi: 10.1182/blood-2014-03-530865.

- 20.** Tefferi A, Thiele J, Vardiman JW. The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms. *Cancer*. 2009;115(17):3842–7. doi: 10.1002/cncr.24440.
- 21.** Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia*. 2008;22(1):14–22. doi: 10.1038/sj.leu.2404955.
- 22.** Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, et al. European Consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica*. 2005;90(8):1128–32.
- 23.** Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, et al. Development and Validation of an International Prognostic Score of Thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood*. 2012;120(26):5128–33. doi: 10.1182/blood-2012-07-444067.
- 24.** Tefferi A, Barbui T. CME Information: Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2015 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2015;90(2):162–73. doi: 10.1002/ajh.23895.
- 25.** Rotunno G, Mannarelli C, Guglielmelli P, et al. Impact of calreticulin mutations on clinical and hematological phenotype and outcomes in essential thrombocythemia. *Blood*. 2014;123(10):1552–5. doi: 10.1182/blood-2013-11-538983.
- 26.** Wolanskyj A, Lasho TL, Schwager SM, et al. JAK2 mutation in essential thrombocythemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol*. 2005;131(2):208–13. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05764.x.
- 27.** Asp J, Andreasson B, Hansson U, et al. Mutational status of essential thrombocythemia and primary myelofibrosis defines clinical outcomes. *Haematologica*. 2016;101(4):e129–32. doi: 10.3324/haematol.2015.138958.
- 28.** Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood*. 2014;124(16):2507–13. doi: 10.1182/blood-2014-05-579136.
- 29.** Andrikovics H, Krahling T, Balassa K, et al. Distinct clinical characteristics of myeloproliferative neoplasms with calreticulin mutations. *Haematologica*. 2014;99(7):1184–90. doi: 10.3324/haematol.2014.107482.
-