

бумажные дневники оценки интенсивности базовой и прорывной болей каждые 6 часов на протяжении всего периода потребности в анальгезии. Среднее время наблюдения составило около 8 суток.

Результаты

Общая комплаентность составила 72%. Степень заполнения дневников позволила разделить всех пациентов на 4 группы. В группу 0-25% заполнения вошло 25 пациентов, средний возраст которых составил 7,5 лет. У 9 пациентов было внесено 26-50% данных, а средний возраст детей составил 9,5 лет (медиана 7). 51-75% результатов было получено от родителей 6 детей среднего возраста 9 лет (медиана 10). В группу 76-100% вошли дневники 33 детей среднего возраста 10 лет (медиана 9).

Выводы

Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что возраст пациентов может ассоциироваться с комплаентностью родителей в ведении дневников интенсивности боли. Возможно, это связано с коммуникативными способностями детей разных возрастов. Для подтверждения этого предположения требуются дальнейшие исследования.

Ключевые слова

Оценка интенсивности боли, дневник наблюдения, педиатрия, анальгезия.

Recovery of memory T cells after alternative prophylaxis regimens of acute graft-versus-host disease (aGVHD) in leukemia patients after allogeneic stem cells transplantation

Natalia N. Popova, Mikhail Y. Drovkov, Elena N. Parovichnikova, Larisa A. Kuzmina, Julia O. Davydova, Nikolay M. Kapranov, Ekaterina D. Mikhaltsova, Olga M. Koroleva, Vera A. Vasilyeva, Darya S. Dubnyak, Zoya V. Konova, Anna A. Sidorova, Ekaterina V. Usikova, Anna A. Dmitrova, Irina V. Galtseva, Michael A. Maschan, Valery G. Savchenko
National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

Contact: Dr. Mikhail Drovkov
E-mail: mdrovkov@gmail.com

Introduction

T-memory cells form the heterogeneous pool of immune cells responsible for alloreactivity after allogeneic stem cells transplantation (allo-HSCT). Nowadays there are new different approaches for aGVHD prophylaxis, but the unified immunosuppressive regimen has not been defined yet. Obviously the immunosuppressive therapy as aGVHD prophylaxis is essential to control aGVHD especially in terms of mismatched or haplo-HSCT when strong immunoablation is required. But timely immune reconstitution is crucial for antitumor immunity. Aim of the present study was to evaluate an impact of different immunosuppressive regimens of aGVHD prophylaxis on T-memory cell subsets recovery in leukemia patients after allo-HSCT.

Patients and methods

The study comprised 39 leukemia patients with a median age of 36 years old (17-60 y.o.) who underwent allo-HSCT in National Research Center for Hematology, Russia. Alternative immunosuppressive regimens of aGVHD prophylaxis in case of mismatched or haplo-HSCT (n=17) include Post-transplant high dose Cyclophosphamide (PT-Cy) on day +3, +4 or alpha/beta T-cells depletion in young patients. Classical immunosuppressive regimen with CsA+MMF+MTX was applied in case of matched related and matched unrelated donors and form the control group (n=22). The characteristics of patients, immunosuppressive regimens, aGVHD and relapses after allo-HSCT are presented in the table 1. Samples

of peripheral blood were collected on day +30, +60 and +90 after allo-HSCT in EDTA-tubes. Flow cytometry analysis was performed on BD FACS Canto II (Becton Dickinson, USA) to define T-memory subsets: T-naive and T-stem cell memory (Tnv+Tscm) – CD8+/CD4+ CD45R0-CCR7+CD28+; T-central memory (Tcm) – CD8+/CD4+ CD45R0+C-CR7+CD28+; T-transitional memory (Ttm) – CD8+/CD4+ CD45R0+CCR7-CD28+; T-effector memory (Tem) – CD8+/CD4+ CD45R0+CCR7-CD28-; T-terminal effector (Tte) – CD8+/CD4+ CD45R0-CCR7-CD28-. Mann-Whitney U test was used for nonparametric data analysis. A p-value less than 0.05 was considered as significant. All data analysis was conducted utilizing SPSS ver. 23. (IBM, Chicago, Ill., USA).

Results

The data are presented in the Fig. 1. According to our data, absolute number of CD8+ Tnv+Tscm after classic immunosuppressive regimen was significantly higher than after PT-Cy prophylaxis, or T-cells depletion on days +30, +60, +90. Absolute number of CD8+ Tnv+Tscm after classic immunosuppressive regimen on day +30 was 4.22 cells/ μ L (1.21-7.0 cells/ μ L), after PT-Cy – 0.38 cells/ μ L (0.17-0.63 cells/ μ L) (p=0.001), after T-cell depletion – 0.14 cells/ μ L (0.05-0.15 cells/ μ L) (p=0.03). Appropriate levels by the day +60 were 2.57 cells/ μ L (1.49-4.99 cells/ μ L) after classic immunosuppressive regimen; 0.12 cells/ μ L (0.02-0.15 cells/ μ L), after T-cell depletion; 1.1 cells/ μ L (0.72-2.8 cells/ μ L) after PT-Cy (p=0.009). On the day +90 these parameters were 4.29 cells/ μ L (2.08-6.58 cells/ μ L) after classic immunosuppressive

regimen; 1.82 cells/ μ L (0.16-3.3 cells/ μ L) after PT-Cy; and 0.35 cells/ μ L (0.01-0.7 cells/ μ L) after T-cell depletion ($p=0.035$). On day +30 and +60, absolute numbers of CD8+ Tcm were significant lower after alternative approaches, when compared to classical immunosuppressive regimen, i.e., on day +30, 1.07 cells/ μ L (0.27-1.75 cells/ μ L) after classical regimen; 0.25 cells/ μ L (0.12-0.68 cells/ μ L) after PT-Cy ($p=0.032$); 0.18 cells/ μ L (0.01-0.34 cells/ μ L) after T-cells depletion ($p=0.036$); on day +60, 0.9 cells/ μ L (0.65-1.68 cells/ μ L); 0.42 cells/ μ L (0.33-0.73 cells/ μ L); 0.05 cells/ μ L (0.01-0.07 cells/ μ L), respectively ($p=0.02$). Absolute number of CD4+ Tnv+Tscm on day +30 was significantly higher after classic immunosuppressive regimen, i.e. 16.1 cells/ μ L (2.1-55.0 cells/ μ L), as compared to PT-Cy – 1.35 cells/ μ L (0.7-5.36 cells/ μ L), and T cell depletion – 0.31 cells/ μ L (0.27-0.71 cells/ μ L) ($p=0.05$). Absolute number of Ttm CD8+ on days +60, +90 and CD4+ on day +30 were different in alternative aGVHD prophylaxis and in control group (Fig. 1). We didn't find any correlations between absolute numbers of Tnv+Tscm, Tcm, Ttm, Tem, Tte and aGVHD onset, or leukemia relapse after allo-HSCT.

Conclusion

Tnv+Tscm is the progenitor subset for all memory and effector T-cells and its prompt recovery after allo-HSCT seems to be crucial for graft-versus-leukemia effect. Here we show the lowest number of CD4+/CD8+ Tnv+Tscm, CD8+ Tcm after alternative approaches of aGVHD prophylaxis that might reflect severe immunoablation in mismatched or haplo-HSCT. To this point, low numbers of Tnv+Tscm on day +60, +90 as progenitor cells for the whole T-memory pool may lead to delayed reconstitution of adaptive immunity after alternative aGVHD prophylaxis in patients after allo-HSCT.

Disclosures

No relevant conflicts of interest to declare.

Keywords

Memory T cells, immune reconstitution, allogeneic stem cell transplantation, GVHD prophylaxis regimens.

Table 1. Characteristics of the patients

	Classic immunosuppressive regimen, n=22	PT-Cy, n=12	T-cells depletion, n=5
AML	17	7	2
ALL	5	5	3
Complete remission (CR)	20	12	5
Relapse	2	-	-
Conditioning regimen:			
RIC	17	9	5
MAC	5	3	-
Matched allo-HSCT:			
related	9	-	-
unrelated (a median of age 38 y.o. (20-60 y.o.))	13		
Related haplo-HSCT, (a median of age 36 y.o. (25-58 y.o.))	-	4	-
Related haplo-HSCT, (a median of age 19 y.o. (17-57 y.o.))	-	-	5
Unrelated mismatched allo-HSCT	-	8	-
Acute GVHD, grade I	-	2	-
Acute GVHD, grade II	3 (13,5%)	1 (8,3%)	1 (20%)
Acute GVHD, grade III	3 (13,5%) } 27%	1 (8,3%) } 16.6%	-
Relapse after the day +100	4 (18%)	1 (8,3%)	0
CR after the day +100	18 (82%)	11 (91,7%)	5 (100%)

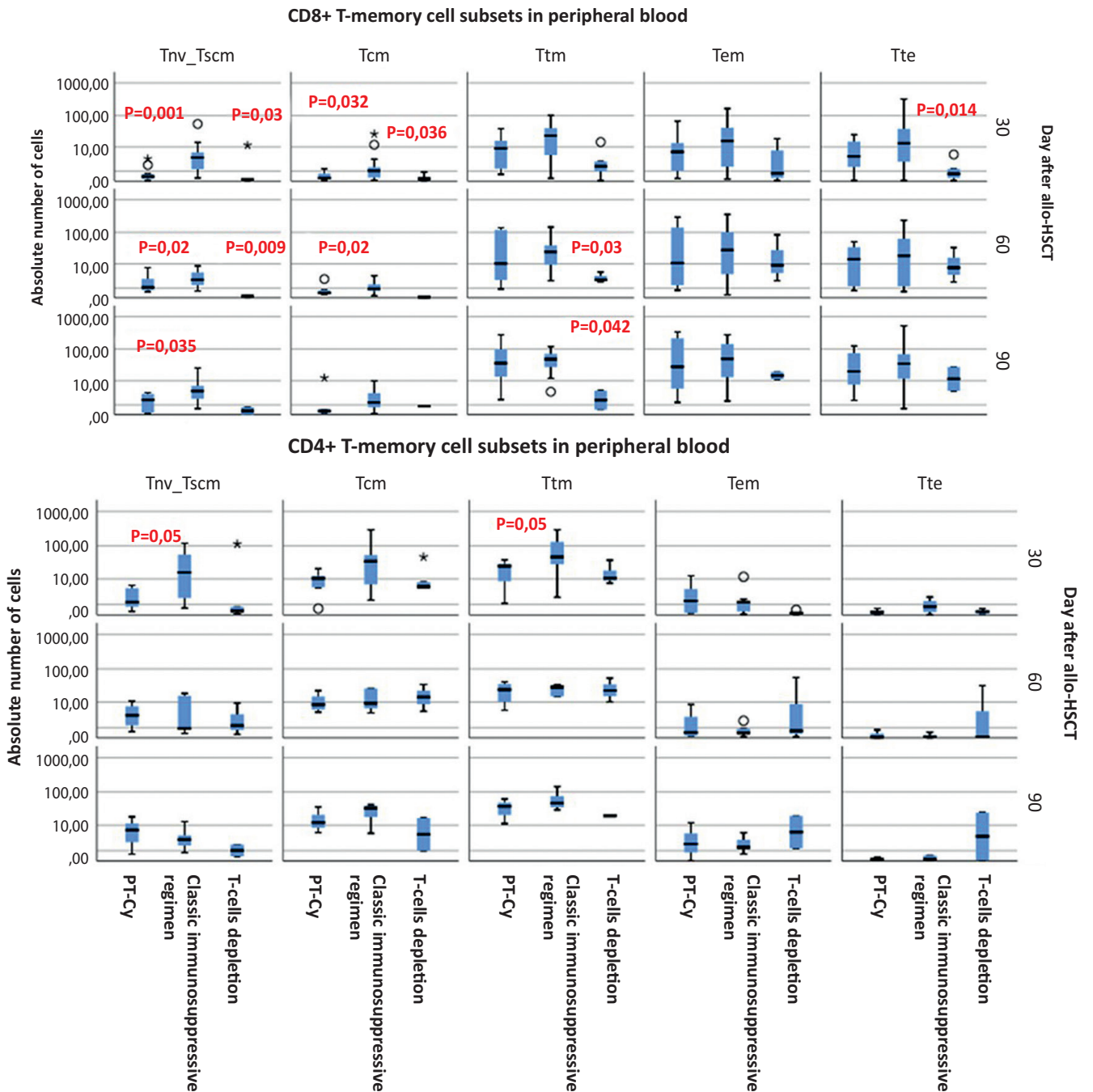


Figure 1. Recovery of T-memory cell subsets in terms of different GVHD prophylaxis in leukemia patients after allo-HSCT

Significant differences ($p < 0.005$) between the number of different T-memory cell subsets in terms of alternative GVHD prophylaxis – PT-Cy or T-cells depletion comparing to classic immunosuppressive regimen are presented in the graph.

Восстановление Т-клеток памяти у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при использовании альтернативных схем профилактики острой реакции трансплантат против хозяина (ОРТПХ)

Наталья Н. Попова, Михаил Ю. Дроков, Елена Н. Паровичникова, Лариса А. Кузьмина, Юлия О. Давыдова, Николай М. Капранов, Екатерина Д. Михальцова, Ольга М. Королева, Вера А. Васильева, Дарья С. Дубняк, Анна А. Сидорова, Екатерина В. Усикова, Зоя В. Конова, Анна А. Дмитрива, Ирина В. Гальцева, Михаил А. Масчан, Валерий Г. Савченко

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава РФ, г. Москва

Введение

Т-клетки памяти представляют собой гетерогенную субпопуляцию иммунных клеток, участвующих в развитии аллоиммунных реакций после алло-ТГСК – реакции трансплантат против опухоли (РТПО) и РТПХ. В настоящее время созданы новые программы иммуносупрессивной терапии, но единого унифицированного подхода профилактики острой РТПХ не существует. Необходимость проведения иммуносупрессии, особенно при несовместимых/гаплоидентичных алло-ТГСК, когда требуется максимальная иммуноабляция, позволяет контролировать развитие/течение РТПХ. Однако необходимость своевременной реконституции иммунной системы является ключевым фактором для реализации противоопухолевого контроля. Цель работы состояла в оценке влияния различных схем профилактики острой РТПХ на восстановление субпопуляций Т-клеток памяти и их предшественников у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК.

Материалы и методы

В исследование включены 39 пациентов с острыми лейкозами, которым была выполнена алло-ТГСК в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава РФ. Медиана возраста составила 36 лет (17-60 лет). Альтернативные программы профилактики острой РТПХ использовали при несовместимых/гаплоидентичных алло-ТГСК (n=17), которые включали в себя посттрансплантационный циклофосфамид (ПТ-ЦФ) на +3, +4 день или Т α β-деплецию у молодых пациентов. В контрольную группу мы включили пациентов с классическим режимом иммуносупрессии (классическая ИСТ) с использованием циклоспорина А в сочетании с микофенолатом мофетилом и малыми дозами метотрексата, применяемых после совместимой родственной/неродственной алло-ТГСК (n=22). Характеристика больных, включенных в исследование, схемы профилактики РТПХ, частота развития острой РТПХ и рецидивов заболевания приведена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика пациентов

	Классическая ИСТ, n=22	ПТ-ЦФ, n=12	Т-депрессия, n=5
ОМЛ	17	7	2
ОЛЛ	5	5	3
Ремиссия	20	12	5
Рецидив	2	-	-
Кондиционирование :			
РИК	17	9	5
МАК	5	3	-
Совместимая алло-ТГСК:			
Родственная	9	-	-
Неродственная (медиана возраста 38 лет (20-60 лет))	13		
Родственная гаплоидентичная алло-ТГСК, (медиана возраста 36 лет (25-58 лет))	-	4	-
Гаплоидентичная родственная, (медиана возраста 19 лет (17-57 лет))	-	-	5
Неродственная частично-совместимая алло-ТГСК	-	8	-
Острая РТПХ, степень I	-	2	-
Острая РТПХ, степень II	3 (13,5%)	1 (8,3%)	1 (20%)
Острая РТПХ, степень III	3 (13,5%) } 27%	1 (8,3%) } 16,6%	-
Рецидив после +100 дня	4 (18%)	1 (8,3%)	0
Ремиссия после +100 дня	18 (82%)	11 (91,7%)	5 (100%)

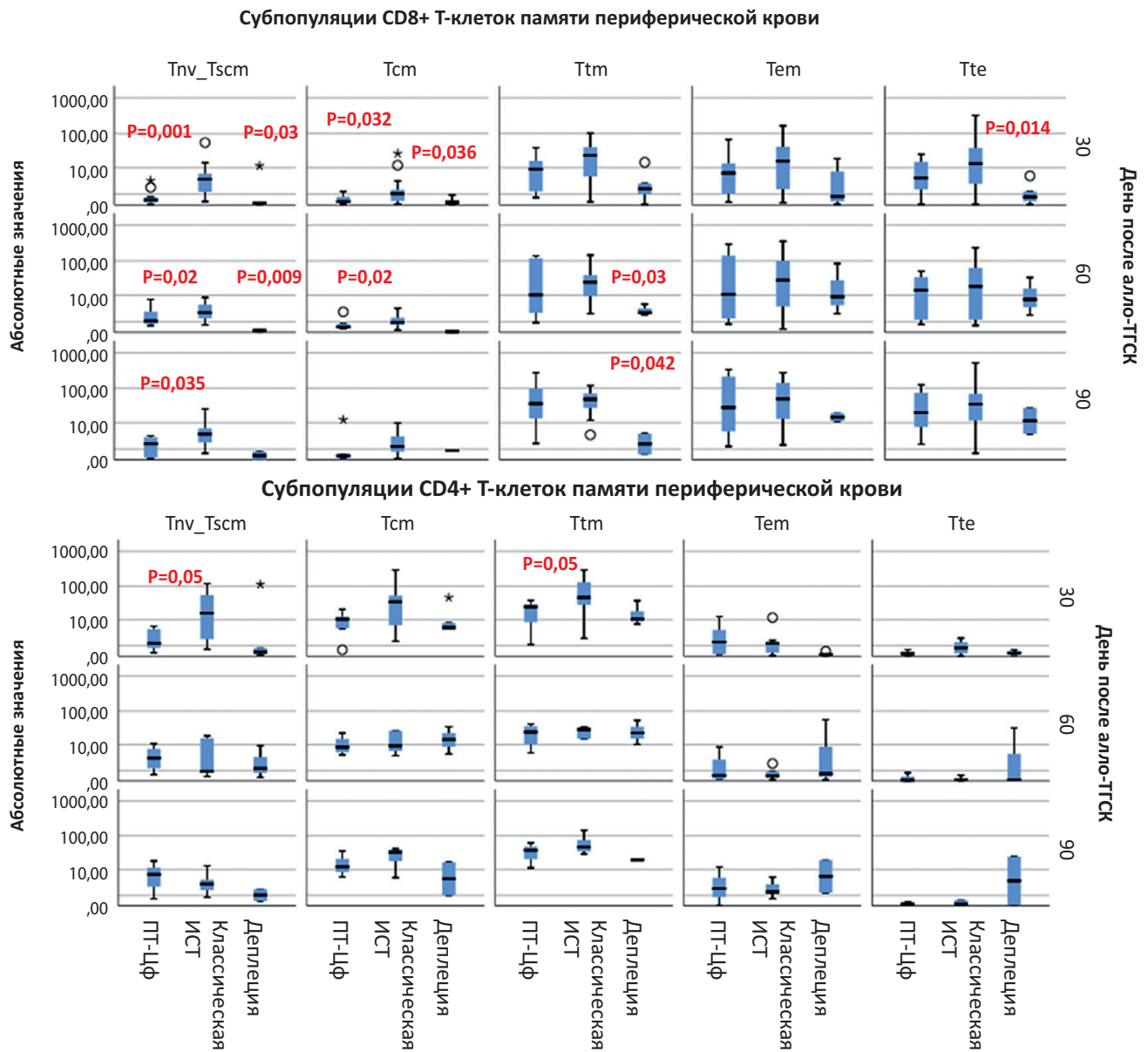


Рисунок 1. Восстановление субпопуляций Т-клеток памяти у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК

Примечание. На графике показаны значимые отличия ($p < 0,005$) по количеству клеток в субпопуляциях CD4+/CD8+ Т-клеток памяти при использовании альтернативных режимов профилактики ОРТПХ – ПТ-ЦФ или Т-деплеции, в сравнении с классической ИСТ.

Для исследования реконституции субпопуляций Т-клеток памяти использовали нативные образцы периферической крови больных после алло-ТГСК на +30, +60, +90 день. С помощью метода многоцветной проточной цитометрии (BD FACS Canto II, Becton Dickinson, USA) были определены следующие субпопуляции Т-клеток памяти периферической крови: Т-наивные и стволовые клетки памяти (Tnv+Tscm) – CD8+/CD4+ CD45R0-CCR7+CD28+; Т-клетки центральной памяти (Tcm) – CD8+/CD4+ CD45R0+CCR7+CD28+; Т-клетки транзитивной памяти (Ttm) – CD8+/CD4+ CD45R0+CCR7-CD28+; Т-клетки эффекторной памяти (Tem) – CD8+/CD4+ CD45R0+CCR7-CD28-; Т- терминальные эффекторы (Tte) – CD8+/CD4+ CD45R0-CCR7-CD28-. Для оценки различий между двумя независимыми выборками использовали U-критерий Манна-Уитни. Значение

$p < 0,05$ считали статистически значимым. Весь анализ данных проводили с использованием SPSS ver 23. (IBM, Chicago, Ill., USA).

Результаты

Данные представлены на рисунке 1. Показано, что на +30, +60, +90 день абсолютное количество CD8+ Tnv+Tscm после классической ИСТ было значимо больше, чем после использования ПТ-ЦФ или Т-деплеции. На +30 день абсолютное количество CD8+ Tnv+Tscm после использования классической схемы профилактики ОРТПХ составило 4,22 кл/мкл (1,21-7,0 кл/мкл), после ПТ-ЦФ – 0,38 кл/мкл (0,17-0,63 кл/мкл) ($p = 0,001$), после Т-деплеции – 0,14 кл/мкл (0,05-0,15 кл/мкл) ($p = 0,03$). На +60 день – 2,57 кл/мкл (1,49-4,99 кл/мкл) после классической ИСТ; 0,12 кл/мкл (0,02-0,15 кл/мкл) после

Т-деплеции; 1,1 кл/мкл (0,72-2,8 кл/мкл) после ПТ-ЦФ ($p=0,009$). На +90 день – 4,29 кл/мкл (2,08-6,58 кл/мкл) после классического режима; 1,82 кл/мкл (0,16-3,3 кл/мкл) после ПТ-ЦФ; 0,35 кл/мкл (0,01-0,7 кл/мкл) после Т-деплеции ($p=0,035$). На +30, +60 день абсолютное количество CD8+ Tcm было значимо меньше после использования альтернативных подходов в сравнении с классической ИСТ – на +30 день 1,07 кл/мкл (0,27-1,75 кл/мкл) после классической ИСТ, 0,25 кл/мкл (0,12-0,68 кл/мкл) после ПТ-ЦФ ($p=0,032$), 0,18 кл/мкл (0,01-0,34 кл/мкл) после Т-деплеции ($p=0,036$); на +60 день 0,9 кл/мкл (0,65-1,68 кл/мкл), 0,42 кл/мкл (0,33-0,73 кл/мкл), 0,05 кл/мкл (0,01-0,07 кл/мкл) соответственно ($p=0,02$). Абсолютное количество CD4+ Tnv+Tscm на +30 день было значимо больше после применения классической схемы профилактики РТПХ – 16,1 кл/мкл (2,1-55,0 кл/мкл), в сравнении с использованием ПТ-ЦФ – 1,35 кл/мкл (0,7-5,36 кл/мкл) и Т-деплеции – 0,31 кл/мкл (0,27-0,71 кл/мкл) ($p=0,05$). Субпопуляция Ttm CD8+ на +60, +90 дни и CD4+ на +30 день отличалась при использовании классической ИСТ и альтернативных режимов (Рисунок 1). Мы не выявили корреляции между числом Tnv+Tscm, Tcm, Ttm, Tem, Tte и развитием оРТПХ или рецидива заболевания.

Заключение

Субпопуляция наивных и стволовых Т-клеток памяти является пулом клеток-предшественников для целого эффекторного звена Т-клеток (Ttm, Tem, Tte), реализующего аллоиммунный ответ. Значимое уменьшение пула CD4+/CD8+ Tnv+Tscm, CD8+ Tcm после использования альтернативных схем профилактики острой РТПХ может свидетельствовать о более глубокой иммуноабляции при этих режимах, используемых при несовместимых/гапло-ТГСК. За счет этого сохраняющееся низкое количество Tnv+Tscm на +60, +90 день, как клеток-предшественников для целой популяции Т-клеток памяти, может свидетельствовать об отсроченной реконституции адаптивного звена иммунного ответа при альтернативных режимах профилактики оРТПХ.

Ключевые слова

Т-клетки памяти, реконституция иммунной системы, трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, профилактика острой РТПХ.

Prognostic factors in autologous stem cell transplant on adult patients with Hodgkin lymphoma

Vsevolod G. Potapenko^{1,2}, Natalia B. Mikhaylova¹, Irina A. Skorokhod², Darya A. Chaginskaya², Viktoria V. Ryabchikova², Eleonora I. Podoltseva², Viktor V. Ipatov³, Igor V. Baykov³, Vyacheslav N. Semelev³, Dmitriy A. Gornostaev³, Nadezhda V. Medvedeva², Boris V. Afanasyev¹

¹ First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg

² Haematology Department, Municipal Clinical Hospital №31, St. Petersburg

³ S. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Contact: Dr. Vsevolod G. Potapenko
E-mail: potapenko.vsevolod@mail.ru

Aim

The study was aimed for evaluation of prognostic significance of different factors by event free and overall survival analysis in patients after high dose therapy with stem cells support (HDT/AHSCT).

Patients and methods

Retrospective analysis includes the data of 84 patients with resistant or relapsed Hodgkin lymphoma. Median age was 26.6 years (18-62). Median follow-up is 49 (0.5-115) months. Prognostic factors analyzed included sex, response to the initial chemotherapy, time to relapse, B-symptoms on relapse, serum LDH and albumin levels, response assessed by computer tomography, number of chemotherapy lines before AHSCT, PET-scan results before (PET1) and after (PET2) AHSCT. Survival was estimated using Kaplan-Meier, Cox methods, Chi-square and log-rank test. Results. Four-year overall survival and event-free survival were 70% and 54% respectively (Tables 1, 2). The presented factors had significant value in survival prediction.

In the combined analysis of PET1 and PET2 significant difference observed only in patients with positivity by PET1 and PET2 compared with group with negative PET1 and PET2 results (Tables 3, 4). Conclusion. Our work has revealed that the most significant factors of the event free survival in patients with Hodgkin lymphoma after HDC/AHSCT are: elevation of the LDH activity, B-symptoms, pretreatment, positivity by PET1 and especially lack of response by CT-scan and positivity by PET2.

Keywords

Hodgkin lymphoma, autologous stem cell transplant, PET, LDH, albumin.