



Рукавицын О.А.✉, Клеина И.В., Новосельцева Л.Г., Филиппович Т.В., Смирнов Р.Н., Алексеев С.А., Троян В.Н.

Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко
Министерства обороны Российской Федерации, Москва, Россия

Бластная плазмocитoидная дендритно-клеточная неоплазия: диагностика и результаты первого этапа лечения (клинические наблюдения)

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: написание текста и одобрение рукописи – Рукавицын О.А.; морфологические, цито- и молекулярно-генетические исследования – Клеина И.В.; рентгенологические исследования – Троян В.Н., Алексеев С.А.; непосредственная курация пациентов – Новосельцева Л.Г., Филиппович Т.В., Смирнов Р.Н.

Подана: 12.03.2022

Принята: 27.04.2022

Контакты: ngc@list.ru

Резюме

Бластная плазмocитoидная дендритно-клеточная неоплазия – редкое заболевание, исходящее из плазмocитoидных дендритных клеток. В статье приведены данные, характеризующие процесс диагностики и лечения двух пациентов, почти одновременно поступивших в клинику. На первом этапе лечение оказалось успешным. Сделан акцент на необходимости накопления информации, что должно привести к формированию стандартных подходов к терапии этой редкой гематологической опухоли.

Ключевые слова: бластная плазмocитoидная дендритно-клеточная неоплазия, диагностика, лечение



Rukavitsyn O.✉, Kleina I., Troyan V., Alekseev S., Novoseltseva L., Filippovich T., Smirnov R.
General Military Clinical Hospital named after academician N.N. Burdenko of the Ministry
of Defense of the Russian Federation, Moscow, Russia

Blast Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasia – Diagnosis and Results of the First Stage of Treatment (Clinical Observations)

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: writing of the text and approval of the manuscript – Rukavitsyn O.; morphological, cytological and molecular genetic studies – Kleina I.; X-ray studies – Troyan V., Alekseev S.; direct supervision of patients – Novoseltseva L., Filippovich T., Smirnov R.

Submitted: 12.03.2022

Accepted: 27.04.2022

Contacts: ngc@list.ru

Abstract

Blast plasmacytoid dendritic cell neoplasia is a rare disease originating from plasmacytoid dendritic cells. The data characterizing the process of diagnosis and treatment of two patients admitted to the clinic almost simultaneously are presented. At the first stage, the treatment was successful. Emphasis is placed on the need to accumulate information, which should lead to the formation of standard approaches to the treatment of this rare hematological tumor.

Keywords: blast plasmacytoid dendritic cell neoplasia, diagnosis, treatment

Бластная плазмацитоидная дендритно-клеточная неоплазия (БПДКН) – редкая гематологическая злокачественная опухоль. Она может характеризоваться поражениями кожи и агрессивным клиническим течением с быстрым поражением костного мозга и лимфатических узлов. Пациентов с БПДКН принято разделять на группы с кожными поражениями и без них, однако клиническое значение такого разделения не вполне ясно: данных о том, что лечение разнится и прогноз неодинаков, пока нет [1]. Обычно БПДКН характеризуется плохим прогнозом и низкими показателями выживаемости. Опухоль исходит из плазмацитоидных дендритных клеток, детальный патогенез ее неясен. Опухолевые клетки характеризуются aberrантной экспрессией CD4, CD56, альфа-цепи рецептора интерлейкина 3 (CD123), антигенов дендритных клеток крови 2 (BCDA2/CD303) и 4 (BCDA4), а также транскрипционного фактора (TCF4). В зависимости от типа экспрессии делаются попытки разделить пациентов с БПДКН на подгруппы (с экспрессией CD123, CD303 и т. д.), но целесообразность этого разделения неочевидна. Лечение БПДКН не разработано, но обычно основано на препаратах, применяемых для терапии лейкозов и лимфом. Рецидивы заболевания и резистентность к проводимому лечению встречаются часто. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток может быть выполнена в полной ремиссии заболевания [2].

Цитогенетические исследования выявляют разнообразные и множественные хромосомные аберрации, нередко в составе комплексного кариотипа; возможно развитие нескольких клонов либо клонов с субклонами. Ввиду редкости заболевания клиническое и прогностическое значение цитогенетических находок неопределенно.

Мы описываем 2 случая БПДКН у пациентов, которые наблюдаются в нашей клинике.

Клинический случай 1

Пациент В. – мужчина 72 лет без резко выраженной коморбидности (отмечает лишь артериальную гипертензию без органических поражений). Анамнез заболевания: считает себя больным в течение последних 3 недель, когда появились изжога, отрыжка воздухом, дискомфорт в области живота. Консультирован гастроэнтерологом. Выполнены фиброгастродуоденоскопия (ФГДС), ультразвуковое исследование органов брюшной полости (УЗИ ОБП), выявлены признаки диффузных изменений паренхимы печени и поджелудочной железы. В общем анализе крови выявлена бластемия. Осмотрен гематологом. С подозрением на острый лейкоз госпитализирован в гематологический стационар.

При поступлении жалобы на отрыжку. Гемограмма от 27.10.2021: лейкоциты – $12,54 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобин – 12,6 г/дл, тромбоциты – $64 \times 10^9/\text{л}$, бластные клетки составили 46%. Миелограмма от 27.10.2021: костный мозг гиперклеточный. Бластные клетки составляют 76%. Они представлены мономорфно клетками среднего размера с умеренным ядерно-цитоплазматическим соотношением, ядра округлые, цитоплазма умеренно базофильная, не содержит отчетливых включений. Цитохимические реакции на пероксидазу, липиды и неспецифическую эстеразу отрицательные; гликоген – полиморфная реакция в диффузно-гранулярной, гранулярной и каплевидной формах. Иммунофенотип: бластные клетки CD45^{low} характеризуются фенотипом CD56+CD123+CD4+CD43+HLA-DR+CD33±. Экспрессия линейно-специфических маркеров Т-лимфоидной линии (cyCD3), В-лимфоидной (CD19,cyCD79a) и миелоидной (MPO) отсутствует. На основании полученных данных можно предположить наличие у пациента опухоли из бластных плазмоцитоидных дендритных клеток (нетипичным является отсутствие экспрессии антигена CD7). Нельзя с полной уверенностью исключить острый лейкоз неоднозначной линейности и острый лейкоз из NK-клеток. Цитогенетическое исследование бластных клеток костного мозга от 27.10.2021: кариотип 46,XY, del(12)(p12)[7]/46,XY,i(7)(q10), del(12)(p12)[7]/83-84,XXYY, der(1), del(2)(p16), -5, t(9;17)(p10;q10)x2, del(12)(p12)x2, -14x2, -17x2,-19x2, + mar or der(5), +1-2 mar[cp5]/46,XY[6]. Проведено исследование методом FISH с использованием следующих ДНК-зондов: ON ETV6/RUNX1 t(12;21) Fusion (Kreatech); 5q-(q31;5q33)/TERT(5p15) Triple-Color (Kreatech); ON TP53(17p13)/SE 17 FISH Probe (Kreatech); 7q-(7q22;7q36)/SE 7 Triple-Color FISH Probes (Kreatech); ON CDKN2A(9p21)/9q21 FISH Probe (Kreatech). В результате проведенных исследований (стандартного цитогенетического и методом FISH) выявлены клон и два субклона. Клон с делецией короткого плеча хромосомы 12 (делецией локуса гена ETV6/12p13); субклон с изохромосомой 7 (частичной трисомией по длинному плечу и частичной моносомией по короткому плечу хромосомы 7); субклон с околотетраплоидным набором хромосом с комплексными изменениями кариотипа: дериватами хромосом 1, 2, делецией длинного плеча хромосомы 5



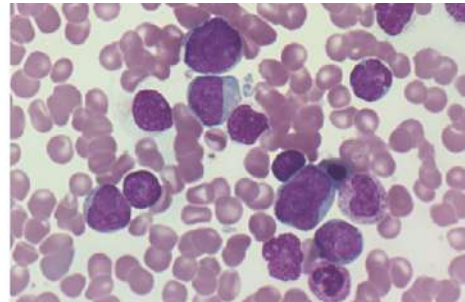
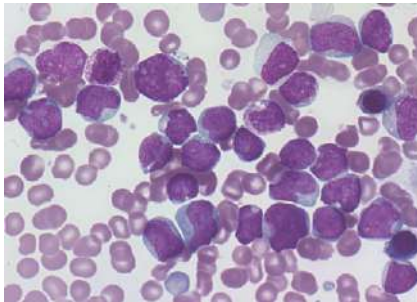
(регионы 5q31;q33) в двух аллелях, транслокацией t(9;17)(q10;q10) с делецией локуса гена TP53/17p13 в двух аллелях, делецией регионов 9q21 в двух аллелях; моносоми-ями по хромосомам 14, 17, 19 и маркерными хромосомами (рис. 1).

ФГБУ ГВКГ им.акад. Н.Н. Бурденко МО РФ
Центр клинической лабораторной диагностики
Лаборатория цитогенетических исследований

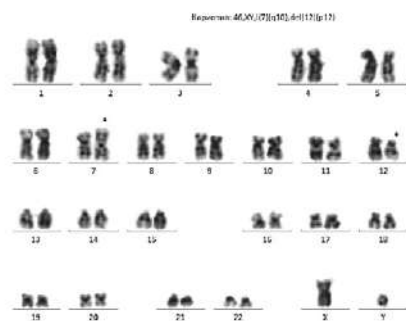
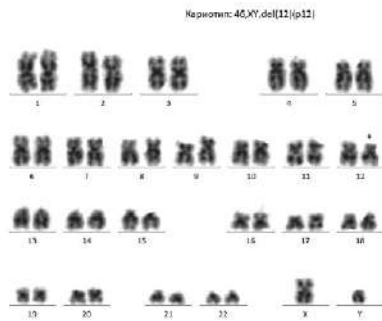
Пациент 1

Пол: муж.

Дата поступления материала: 27.10.2021



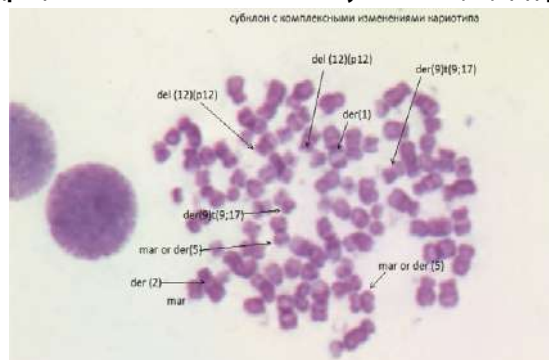
Препарат костного мозга: метаплазия бластными клетками



Результаты стандартного цитогенетического исследования:

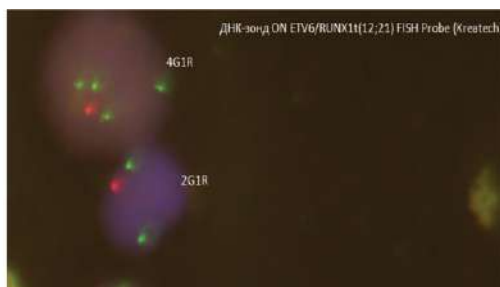
1. Кариотип: 46,XY, del(12)(p12)

2. Субклон I: 46,XY, i(7)(q10), del(12)(p12)

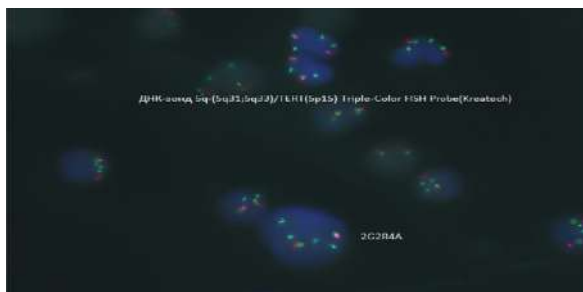


3. Субклон II: 83-84,XXYY, der(1), del(2)(p16), -5, t(9;17)(p10;q10)x2, del(12)(p12)x2, -14x2, -17x2, -19x2, + mar or der(5), +1-2 mar

FISH-исследование на суспензии клеток костного мозга



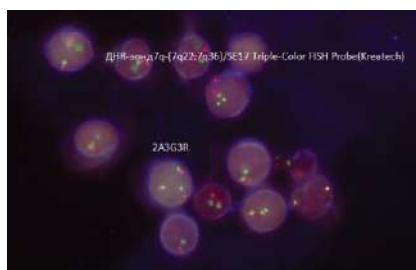
Результаты FISH-исследования с ДНК-зондом ON ETV6/RUNX1 t(12;21) Fusion (Kreatech):
два клона: 1) делеция локуса гена ETV6 /12p13: отсутствует один красный сигнал от локуса гена ETV6 /12p13, два зеленых сигнала от RUNX1/21q22;
2) делеция локуса гена ETV6 /12p13 в трех аллелях: отсутствуют три красных сигнала от локуса гена ETV6 /12p13 в тетраплоидном ядре, четыре зеленых сигнала от RUNX1/21q22



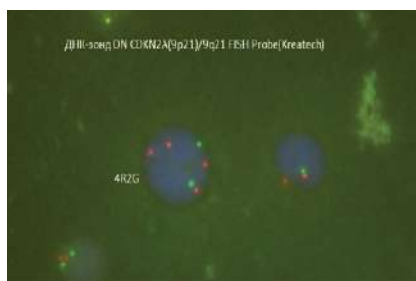
Результаты FISH-исследования с ДНК-зондом 5q- (5q31;q33)/TERT(5p15) Triple-Color (Kreatech):
делеция длинного плеча хромосомы 5 в двух аллелях в тетраплоидном ядре: отсутствуют два зеленых сигнала от региона 5q31 и два красных сигнала от региона 15q33, четыре голубых сигнала от региона 5p15



Результат FISH-исследования с ДНК-зондом ON TP 53(17p13) /SE 17 FISH Probe (Kreatech):
делеция локуса гена TP 53 /17p13 в двух аллелях в тетраплоидном ядре: отсутствуют два красных сигнала от локуса гена TP 53 /17p13, четыре зеленых сигнала от центромерного региона хромосомы 17



Результат FISH-исследования с ДНК-зондом 7q- (7q22;7q36)/SE 7 Triple-Color FISH Probes (Kreatech): трисомия по длинному плечу хромосомы 7: три зеленых сигнала от региона 7q22, три красных сигнала от региона 7q36, отсутствует один голубой сигнал D7Z1 от центромерного региона хромосомы 7



Результат FISH-исследования с ДНК-зондом ON CDKN2A(9p21)/9q21 FISH Probe (Kreatech): делеция длинного плеча хромосомы 9 в двух аллелях в тетраплоидном ядре: отсутствуют два зеленых сигнала от региона 9q21, четыре красных сигнала от локуса гена CDKN2A/9p21

Заключение: в результате проведенных исследований (стандартного цитогенетического и методом FISH) выявлены клон и два субклона. Клон с делецией короткого плеча хромосомы 12 (делецией локуса гена ETV6/12p13); субклон с изохромосомой 7 (частичной трисомией по длинному плечу и частичной моносомией по короткому плечу хромосомы 7); субклон с околотетраплоидным набором хромосом с комплексными изменениями кариотипа: дериватами хромосом 1, 2, делецией длинного плеча хромосомы 5 (регионы 5q31;q33) в двух аллелях, транслокацией t(9;17)(q10;q10) с делецией локуса гена TP53/17p13 в двух аллелях, делецией регионов 9q21 в двух аллелях; моносомиями по хромосомам 14, 17, 19 и маркерными хромосомами.

Рис. 1. Данные Пациента 1

Материал костного мозга исследован в двух независимых лабораториях. Заключение: опухоль из бластных плазмациитоидно-дендритных клеток. С 29.10.2021 по 30.11.2021 проведена 1-я фаза индукции по программе «ОЛЛ-2009» (преднизолон 120 мг/сутки внутрь 1–28-й дни с постепенным снижением вплоть до отмены, даунорубин 90 мг в/в 8-й, 15-й, 22-й дни, винкристин 2,0 мг в/в 8-й, 15-й, 22-й дни) на фоне аллопуринола, стандартной инфузионной, антиэметической и гемозаместительной терапии. На 10-й день курса выполнена контрольная стерильная пункция, в миелограмме от 08.11.2021 бластные клетки – 0,8%. Терапию перенес без осложнений. В постцитостатический период проводилась антибактериальная (офлоксин), противогрибковая (флуконазол), гемостатическая (этамзилат, транексам), заместительная гемотрансфузионная (3 л. д. тромбоконцентрата) терапия. В миелограмме от

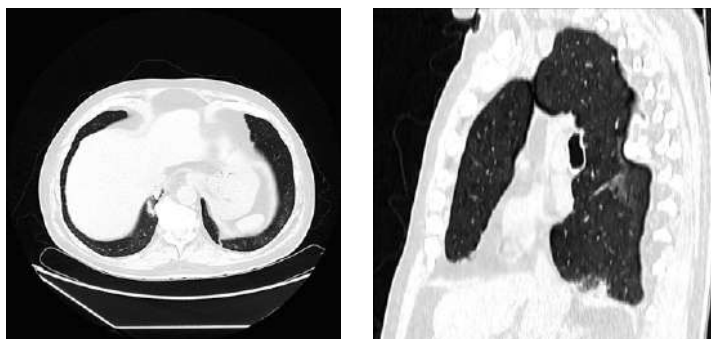


Рис. 2. Компьютерная томография органов грудной клетки у Пациента 1

13.12.2021 бластные клетки – 6,2%. Выполнена компьютерная томография органов грудной клетки, по результатам которой в S10 правого легкого выявлены участки неоднородного снижения пневматизации по типу инфильтрации с перифокальными изменениями (рис. 2). Проведена II фаза индукции по протоколу «ОЛЛ-2009» в редуцированных дозах (циклофосфан 1800 мг в/в кап., цитозар по 100 мг 1 раз в сутки, аспарагиназа 10 000 ЕД в/в кап., меркаптопурин 50 мг внутрь) без осложнений. С заместительной целью перелито 2 дозы эритрофлеса. В миелограмме от 11.01.2022 бластные клетки – 1,0%. В рамках протокола «ОЛЛ-2009» (консолидации I) выполнено одно введение химиопрепаратов в редуцированных дозах (доксорубин 30 мг в/в кап., винкристин 2,0 мг в/в стр.) без осложнений. Амбулаторно продолжил прием мегадекса (20 мг с постепенным снижением дозы вплоть до отмены). В миелограмме от 31.01.2022 бластные клетки – 1,8%. В рамках протокола «ОЛЛ-2009» (консолидации I) выполнено 2-е введение химиопрепаратов в редуцированных дозах (доксорубин 50 мг в/в кап., винкристин 2,0 мг в/в стр.) без осложнений. В миелограмме от 16.02.2022 бластные клетки – 3,2%. В рамках протокола «ОЛЛ-2009» (консолидации II) выполнено введение аспарагиназы в редуцированной дозе (10 000 ЕД) без осложнений. В рамках протокола «ОЛЛ-2009» (консолидации III) выполнено введение циклофосфана в редуцированной дозе (1000 мг) без осложнений, продолжает прием меркаптопурина по 50 мг в сутки постоянно. Терапия продолжена. В рамках протокола «ОЛЛ-2009» (консолидации III) выполнено введение цитозара в редуцированной дозе (100 мг 1–4-й дни), аспарагиназы (20 000 ЕД) без осложнений, продолжает прием меркаптопурина по 50 мг в сутки постоянно. Пациент в удовлетворительном состоянии выписывается на амбулаторное долечивание под наблюдение гематолога по месту жительства до следующего введения химиопрепаратов.

На основании имеющихся клинико-гематологических данных сформулирован диагноз. Основное заболевание: бластная плазмоцитоидная дендритно-клеточная неоплазия. Индукционная терапия: «ОЛЛ-2009». Клинико-гематологическая ремиссия от 11.2021. Сопутствующие заболевания: хронический гастродуоденит, желчекаменная болезнь, холецистэктомия (2010 г.), дивертикулярная болезнь сигмовидной кишки, гипертоническая болезнь 2-й стадии (1-я степень артериальной гипертензии, риск сердечно-сосудистых осложнений 3).



Клинический случай 2

Пациент Г. – мужчина 66 лет без выраженной коморбидности. Анамнез заболевания: считает себя больным с января 2022 г., когда впервые отметил появление одышки, общей слабости, периодических носовых кровотечений. 26.01.2022 обратился к терапевту по месту жительства, назначена противовирусная терапия. С 04.02.2022 отметил увеличение шейных лимфатических узлов, к терапии добавлены антибактериальные препараты. По данным компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК) данных за поражение легочной ткани не выявлено. Госпитализирован в стационар для обследования. Выполнена стеральная пункция. Диагностирован острый лейкоз (миелограмма от 16.02.2022: бластные клетки – 95%). Для дальнейшего обследования и лечения переведен в гематологический стационар.

При поступлении жалобы на общую слабость, учащенное сердцебиение, головокружение, одышку в покое и при незначительной физической нагрузке, повышение температуры тела до субфебрильных цифр, периодические носовые кровотечения, увеличение периферических лимфоузлов. Гемограмма от 18.02.2022: лейкоциты – $192,48 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобин – 6,9 г/дл, тромбоциты – $38 \times 10^9/\text{л}$, бластные клетки – 91%. Миелограмма от 18.02.2022: костный мозг гиперклеточный. Бластные клетки составляют 93,2%. Они представлены мономорфно клетками небольшого размера с умеренным ядерно-цитоплазматическим соотношением, ядра округлые, видны 1–2 нуклеолы, цитоплазма умеренно базофильная, не содержит включений. Цитохимические реакции на пероксидазу, липиды и неспецифическую эстеразу отрицательные, гликоген в части клеток в слабодиффузной и диффузно-гранулярной формах. Иммунофенотип: бластные клетки CD45low экспрессируют антигены CD123, CD56, CD7, CD33, CD117low; экспрессия суCD3 слабее, чем на лимфоцитах CD45++, что не позволяет диагностировать Т-ОЛЛ. Полученные данные более соответствуют бластной плазмацитоидной дендритно-клеточной опухоли. Рекомендуются дополнительные исследования (цитогенетическое исследование, ИГХ трепанобиоптата). Цитогенетическое исследование клеток костного мозга от 18.02.2022: кариотип 45,XY, add(1)(p36), del(3)(p25), der(8), der(9), del(12)(p13), add(12)(p11) or t(3;12)(p25;p11), -13, der(17)[cp10]. Проведено исследование методом FISH со следующими ДНК-зондами: BCR/ABL(ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe (Cytocell); ON ETV6/RUNX1 t(12;21) Fusion (Kreatech); ON TP53(17p13)/SE 17 FISH Probe (Kreatech); ON DLEU1(13q14)/13qter FISH Probe (Kreatech). В результате проведенных исследований (стандартного цитогенетического и методом FISH) выявлены клон и субклон. Клон с делецией локуса гена ETV6/12p13 и делецией региона 13q14; субклон с комплексными изменениями кариотипа: дериватами хромосом 1, 8, 9, 12, 17, делецией короткого плеча хромосомы 3, биаллельной делецией локуса гена ETV6/12p13, делецией локуса гена ABL/9q34; моносомией по хромосоме 13 (рис. 3).

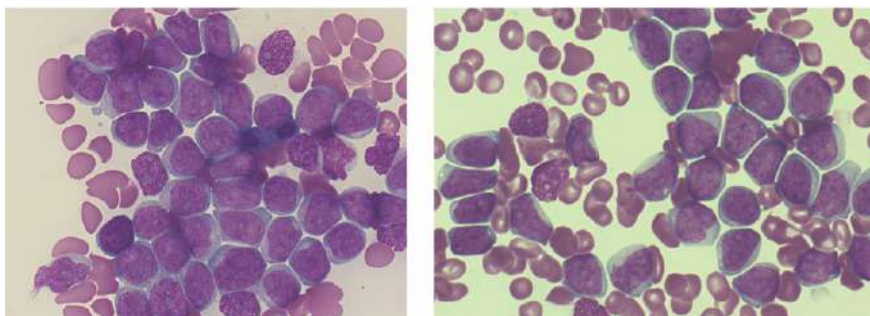
Заключение: опухоль из бластных плазмацитоидно-дендритных клеток. С 18.02.2022 начата 1-я фаза индукции по программе «ОЛЛ-2009» (преднизолон 60 мг/сутки внутрь 1–19-й дни, даунорубин 60 мг в/в 8-й день, винкристин 2,0 мг в/в 8-й день) на фоне аллопуринола, стандартной инфузионной, антиэметической и гемозаместительной терапии. На 10-й день курса выполнена контрольная стеральная пункция, в миелограмме от 28.02.2022 бластные клетки – 11,8%. Терапию перенес без осложнений. Проводилась антибактериальная (цефепим), противогрибковая

ФГБУ ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко МО РФ
Центр клинической лабораторной диагностики

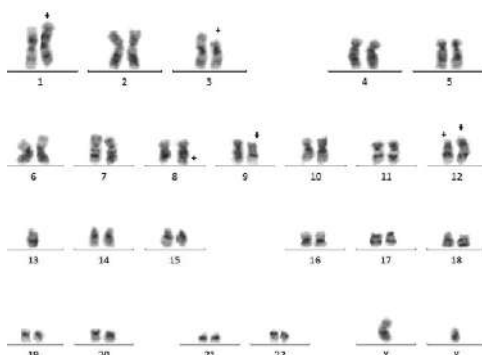
Пациент 2

Пол: муж.

Дата поступления материала: 18.02.2022



Препарат костного мозга: метаплазия бластными клетками



Результат стандартного цитогенетического исследования:

Кариотип: 45,XY, add(1)(p36), del(3)(p25), der(8), der(9), del(12)(p13), add(12)(p11) or t(3;12)(p25;p11), -13, der(17)

FISH-исследование на суспензии клеток костного мозга



Результат FISH-исследования с ДНК-зондом BCR/ABL(ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe (Cytocell): делеция локуса гена ABL/9q34: отсутствует один красный сигнал от локуса гена ABL/9q34, два зеленых сигнала от локуса гена BCR/22q11



Результат FISH-исследования с ДНК-зондом ON ETV6 /RUNX1 t(12;21) Fusion (Kreatech)
Два клона: 1) делеция локуса гена ETV6 /12p13: отсутствует один красный сигнал от локуса гена ETV6/12p13, два зеленых сигнала от локуса гена RUNX1/21q22;
2) биаллельная делеция локуса гена ETV6 /12p13: отсутствуют два красных сигнала от локуса гена ETV6/12p13, два зеленых сигнала от локуса гена RUNX1/21q22



Результат FISH-исследования с ДНК-зондом ON TP 53(17p13)/SE 17 FISH Probe (Kreatech): нормальное распределение сигналов: два зеленых сигнала от центромерного региона хромосомы 17, два красных сигнала от локуса гена TP53/17p13



Результат FISH-исследования с ДНК-зондом DLEU1(13q14) /13qter FISH Probe (Kreatech)
Два клона: 1) делеция региона 13q14: отсутствует один красный сигнал от региона 13 q14, два зеленых от региона 13q34;
2) моносомия хромосомы 13: отсутствует один красный сигнал от региона 13 q14, отсутствует один зеленый сигнал от региона 13q34

Заключение:

в результате проведенных исследований (методом стандартного цитогенетического и FISH), выявлены клон и субклон. Клон с делецией локуса гена ETV6/12p13 и делецией региона 13q14; субклон с комплексными изменениями кариотипа: дериватами хромосом 1, 8, 9, 12, 17, делецией короткого плеча хромосомы 3, биаллельной делецией локуса гена ETV6/12p13, делецией локуса гена ABL/9q34; моносомией по хромосоме 13.

Рис. 3. Данные Пациента 2

(флуконазол), гемостатическая (этамзилат, транексам), заместительная гемотрансфузионная (19 л. д. тромбоконцентрата, 10 доз эритро. массы) терапия. Лечение продолжено. В рамках протокола «ОЛЛ-2009» (I фаза индукции) выполнены введения химиопрепаратов (винкристин 2,0 мг в/в стр. 15-й, 21-й дни, даунорубин 90 мг в/в кап. 15-й, 21-й дни) на фоне аллопуринола, стандартной инфузионной, антиэметической и гемозаместительной (5 доз СЗП, 1 л. д. тромбоконцентрата) терапии. Пациент в удовлетворительном состоянии выписан на амбулаторное долечивание под наблюдение гематолога по месту жительства до следующего введения химиопрепаратов. В дальнейшем лечение по протоколу продолжено. Через 2 месяца от начала лечения констатирована полная ремиссия заболевания.

На основании имеющихся данных сформулирован диагноз. Основное заболевание: бластная плазмацитоидная дендритно-клеточная неоплазия от 02.2022. Полная клинко-гематологическая ремиссия от 06.04.2022. Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь 2-й стадии (1-я степень артериальной гипертензии, риск сердечно-сосудистых осложнений 3).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В качестве резюме можно констатировать, что мы наблюдаем двух пациентов с бластной плазмацитоидной дендритно-клеточной неоплазией. Это редкое заболевание имеет клинко-гематологическую картину, идентичную острой лейкемии. Особенности, общими для этих пациентов, можно считать цитогенетические аномалии: клоны и субклоны с комплексными изменениями кариотипа, включающие структурные и количественные перестройки. Картиной острой лейкемии, в частности, был обусловлен и выбор программы лечения, применяющейся при остром лимфобластном лейкозе. Можно констатировать успех первого этапа лечения у обоих пациентов и быстрое достижение полной клинко-гематологической ремиссии. Дальнейшее наблюдение покажет эволюцию заболевания и возможность сохранения ответа на лечение. Накопление информации об этой редкой нозологической форме может привести к формированию стандартных терапевтических подходов и к улучшению результатов лечения пациентов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Suzuki Y., Kato S., Kohno K. Clinicopathological analysis of 46 cases with CD4⁺ and/or CD56⁺ immature haematolymphoid malignancy: reappraisal of blastic plasmacytoid dendritic cell and related neoplasms. *Histopathology*. 2017;71(6):972–984. doi: 10.1111/his.13340
2. Cheng W., Yu T.T., Tang A.-P., Young K.H., Yu L. Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm: Progress in Cell Origin, Molecular Biology, Diagnostic Criteria and Therapeutic Approaches. *Curr Med Sci*. 2021;41(3):405–419. doi: 10.1007/s11596-021-2393-3