

## Анализ структуры терапии Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний по данным популяционного регистра

Капланов К.Д., Клиточенко Т.Ю., Боско О.О., Демиденко К.В.

Отделение гематологии ГБУЗ Волгоградский областной клинический онкологический диспансер №1

**Введение.** Группа Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний (МПЗ) характеризуется преимущественно пожилым возрастом пациентов и относительно высокими среди других гематологических новообразований показателями общей выживаемости. Лечебные мероприятия при заболеваниях данной группы направлены на оптимальный циторедуктивный эффект, устранение опасных для жизни осложнений и снятие симптомов, снижающих качество жизни. Контроль за структурой терапии МПЗ не только имеет фармакоэкономический интерес, но и влияет на организационные мероприятия в структуре амбулаторно-поликлинической помощи.

**Цель работы.** Изучить структуру терапии Ph-негативных МПЗ, назначаемой в гематологических кабинетах поликлинических учреждений и онкологических диспансеров; оценить эффективность проводимой терапии; выявить факторы, связанные с назначением интерферонсодержащей терапии после верификации диагноза.

**Материалы и методы.** В настоящее время регистр включает 491 больного Ph-негативными МПЗ, проживающего в Волгоградской области (277 женщин и 214 мужчин) в возрасте от 23 до 89 лет, средний возраст 63 года, медиана возраста 64 года. Из них 252 (51%) больных эритремией, 61 (12,5%) – эссенциальной тромбоцитемией, 165 (34%) – первичным миелофиброзом, 12 (2,5%) – вторичным миелофиброзом. На момент установления диагноза конституциональные симптомы наблюдались у 68 (14%) больных. Верификацию диагноза выполняли на основании клинической картины, анализов периферической крови, гистологического исследования трепанобиоптата и цитоморфологического анализа

аспирата костного мозга, ПЦР-исследования мутации гена *JAK2* и, при необходимости, исключения t(9; 22) и экспрессии гена *Bcr-Abl*. Длительность наблюдения составила 5–350 мес, медиана наблюдения – 35 мес. Структура терапии в группе после установления диагноза: гидроксикарбамид – 172 (35%) больных, гидроксикарбамид и интерферон – 54 (11%), гидроксикарбамид и эритроцитозферез – 42 (9%), интерферон – 85 (17%), эритроцитозферез – 97 (20%), наблюдение – 41 (8%). Статус по IPSS и DIPSS в группе первичного и вторичного миелофиброза (178 больных): IPSS: низкий риск – 61 (34,3%), промежуточный I и II – 104 (58,4%), высокий – 13 (7,3%); DIPSS: низкий – 54 (30%), промежуточный I – 98 (55%), промежуточный II – 23 (13%), высокий – 3 (2%). Вторые злокачественные опухоли (метахронные новообразования) по данным регистра зарегистрированы у 35 (7%) больных. В многофакторном анализе (логистическая регрессия) исследовано влияние различных параметров на выбор терапии, включающей интерферон.

**Результаты и обсуждение.** Вероятность назначения терапии, содержащей интерферон, была значимо выше у пациентов с эссенциальной тромбоцитемией – ОШ = 3,5; 95% ДИ (1,8–7);  $p = 0,0001$ , первичным миелофиброзом – ОШ = 1,7; 95% ДИ (1–3);  $p = 0,041$  и в возрастной группе моложе 60 лет – ОШ = 3,5; 95% ДИ (2,1–5,8);  $p = 0,0001$ .

**Заключение.** Практика назначения интерферона в монорежиме и комбинации его с другими агентами не всегда соответствует опубликованным рекомендациям. Вместе с тем следует отметить и противоречивость опубликованных данных клинических исследований.

## Мониторинг детекции β-лактамаз расширенного спектра среди энтеробактерий, выделенных от больных острыми миелоидными лейкозами и лимфомами в период химиотерапии

Коробова А. Г., Трушина Е.Е., Фролова И.Н., Охмат В.А., Кравченко С.К., Паровичникова Е.Н., Клясова Г.А.

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

**Введение.** Ведущими возбудителями сепсиса у больных с опухолями системы крови являются энтеробактерии, а транслокация их в кровоток происходит, как правило, со слизистой оболочки пищеварительного тракта. В последнее десятилетие существенно увеличилась детекция β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) у энтеробактерий.

**Цель работы.** Изучить частоту колонизации слизистых энтеробактериями с продукцией БЛРС у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и лимфомами.

**Материалы и методы.** У больных с *de novo* ОМЛ и лимфомами проводили одновременно посев со слизистой оболочки ротоглотки и прямой кишки при поступлении, а затем каждую неделю в течение 6 мес. Детекцию БЛРС проводили стандартными методами.

**Результаты и обсуждение.** В проспективное исследование (апрель–декабрь 2013 г.) было включено 67 больных (27 мужчин и 40 женщин; медиана возраста 39 лет). ОМЛ были диа-

гностированы у 25 (37%), лимфомы – у 42 (63%) больных. При первом поступлении в ГНЦ колонизация штаммами с БЛРС была выявлена у 11 (16%) больных – у 3 (12%) больных ОМЛ и у 8 (19%) – лимфомами. Все штаммы выделены из кишечника.

У 35 из 67 больных изучили колонизацию энтеробактериями с БЛРС в период лечения от 4 до 6 мес. За этот период колонизация продуцентами БЛРС была выявлена у 32 (91%) больных. Медиана детекции БЛРС у больных лимфомами составила 26 дней, у больных ОМЛ – 44 дня. Спектр бактерий был следующий: *E. coli* ( $n = 25,36\%$ ), *K. pneumoniae* ( $n = 12,18\%$ ), *Enterobacter* spp. ( $n = 11,16\%$ ), *Citrobacter* spp. ( $n = 7,11\%$ ), *K. oxytoca* ( $n = 6,9\%$ ), другие ( $n = 7,1\%$ ).

**Заключение.** Энтеробактерии с продукцией БЛРС были выявлены у 16% больных при первом поступлении в стационар и у 91% – в период лечения. Детекция БЛРС-штаммов у больных лимфомами наблюдается в более ранние сроки, чем у больных ОМЛ.

## Биочип для сортировки лейкоцитов по поверхностным антигенам и исследования их морфологии и цитохимии

Кузнецова С.А.<sup>1,2,3</sup>, Хвастунова А.Н.<sup>1</sup>, Доронина А.О.<sup>1</sup>, Федянина О.С.<sup>2</sup>, Горгидзе Л.А.<sup>3</sup>, Аль-Ради Л.С.<sup>3</sup>, Атауллаханов Ф.И.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д.Рогачева Минздрава России; <sup>2</sup>ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН; <sup>3</sup>ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

Диагностика онкогематологических заболеваний основывается на сочетании данных морфологии, иммунофенотипирования и цитохимических исследований. Однако существующие на сегодняшний день методы не позволяют проводить

определение поверхностных антигенов и изучение морфологии или цитохимии на одних и тех же клетках. Мы разработали клеточный биочип для сортировки лейкоцитов человека по поверхностным антигенам с последующим морфологи-

ческим или цитохимическим исследованием. Биочип – прозрачная подложка с иммобилизованными антителами к 35 поверхностным дифференцировочным антигенам лейкоцитов. При инкубации биочипа с суспензией лейкоцитов клетки, несущие определенный поверхностный антиген, связываются с иммобилизованными на биочипе антителами. После отмывки неспецифически связавшихся клеток на подложке остаются области, покрытые лейкоцитами, несущими тот или иной поверхностный антиген. Затем биочип высушивают и к связавшимся с ним клеткам применяют стандартные методы морфологической или цитохимической окраски. Наши результаты показывают, что плотность связывания лейкоцитов с иммобилизованными на биочипе антителами позволяет оценить долю клеток, положительных по соответствующим поверхностным антигенам. Для нормальных мононуклеаров периферической крови показана высокая корреляция плотности клеток, связавшихся с антителами к CD3, CD4, CD8 и CD19, нормированной на плотность связывания с анти-CD45, с долей клеток, положительных по указанным маркер-

рам, определенной с помощью проточной цитометрии. Морфологические и цитохимические характеристики нормальных и патологических лейкоцитов крови и костного мозга на биочипе практически не отличаются от характеристик аналогичных клеток в стандартных мазках. Параллельное использование морфологии и "сортировка" клеток по поверхностным антигенам позволяют определять популяции опухолевых клеток, составляющие 1% от общего числа исследуемых клеток, и определять их иммунофенотип. Разделение клеток по поверхностным маркерам позволяет выделить чистую популяцию опухолевых клеток и разделить две популяции опухолевых клеток в случае билинейных лейкозов. Клеточный биочип можно использовать для разработки новых методов диагностики онкогематологических заболеваний, особенно в случаях, когда для постановки диагноза необходимо определение иммунофенотипа клеток определенной морфологии, в случае нетипичной морфологии и aberrантных иммунофенотипов, а также для диагностики билинейных лейкозов или сочетания двух онкогематологических заболеваний.

### Частота и прогностическое значение укорочения теломерных участков ДНК при апластической анемии

Кулагин А.Д., Борисов В.И., Пронкина Н.В., Лисуков И.А., Козлов В.А., Афанасьев Б.В.

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург; НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

**Введение.** Укорочение теломерных районов ДНК (теломер) является биологическим ограничением репликативного потенциала клетки. Феномен ускоренного укорочения теломер вследствие мутаций в теломеразном комплексе хорошо документирован при ряде редких конституциональных форм апластической анемии (АА) и менее охарактеризован у больных приобретенной АА. В настоящем исследовании изучены частота и прогностическое значение укорочения теломер у больных приобретенной АА в отношении отдаленных исходов иммуносупрессивной терапии (ИСТ).

**Материалы и методы.** Проведено одномоментное исследование длины теломер в гранулоцитах методом Flow-FISH с определением абсолютного и скорректированного по возрасту показателя DeltaTEL у 53 больных АА до лечения ( $n = 15$ ), с отсутствием ответа на ИСТ ( $n = 5$ ) и в ремиссии заболевания ( $n = 33$ ). Согласно стандартным критериям нетяжелая (НТАА), тяжелая (ТАА) и сверхтяжелая (СТАА) формы имелись у 15, 22 и 16 больных соответственно. Критерием укорочения теломер стало абсолютное значение, не достигающее нижней границы 99% доверительного интервала в группе здоровых доноров соответствующего возраста. Сформированная когорта наблюдалась проспективно с оценкой ответа на ИСТ (критерии В. Camitta, 2000), кумулятивной частоты рецидивов и клональных осложнений, общей и свободной от неудач лечения выживаемости.

**Результаты.** Короткие теломеры (ТК) выявлены у 24 (45%) больных с медианой значения DeltaTEL = -1,715 т.п.н. по сравнению с -0.009 т.п.н. в группе с нормальной длиной теломер (ТН). Частота выявления ТК обратно зависела от степени тяжести заболевания (НТАА 10/15 больных, ТАА и СТАА 14/38;  $p = 0,048$ ). При срезовом исследовании всей когорты показана связь ТК с длительностью заболевания и отсутствием ответа на ИСТ, но при проспективной оценке только первичных пациентов частота достижения ремиссии статистически не различалась в группах с ТК (67%) и ТН (75%). При оценке отдаленных результатов ИСТ не выявлено различий в частоте рецидивов АА и прогрессии субклинической ПНГ в гемолитическую форму. Однако все 3 случая трансформации в МДС/ОМЛ произошли у больных с ТК с кумулятивной частотой 15,4 против 0% в группе ТН ( $p = 0,063$ ). При медиане наблюдения 61 мес от момента тестирования длины теломер 10-летняя общая (86,9 и 92,6%) и свободная от неудач лечения (38,5 и 57,5%) выживаемость статистически не различалась у больных с ТК и ТН соответственно.

**Заключение.** Ускоренное укорочение теломер в гранулоцитах является характерным феноменом у больных приобретенной АА (45%) и выявляется наиболее часто при тяжелой АА (67%). Укорочение теломер ассоциировано с повышенным риском развития МДС/ОМЛ.

### Популяционная гематология: цели, объекты и методы

Куликов С.М., Гармаева Т.Ц., Русинов М.А., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г.

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

В философии науки существуют два методологических подхода: типологический и популяционный. Первый характерен для точных естественных наук, второй – для популяционных (эпидемиологических) и социальных (демографических). При типологическом подходе отклонения характеристик реальных объектов от идеальных рассматриваются как ошибки измерений. В популяционном подходе именно вариации, отклонения являются предметом изучения. Гетерогенность популяции – ключевое понятие в популяционных науках. Медицинская наука, в том числе и традиционная онкогематология, строится на основе переноса результатов, полученных из анализа группы больных, на модель единичного пациента. В практической медицине модель "идеального" или "сред-

него" больного используют для планирования воздействия на группу, популяцию. Результатом этих двух противоположно направленных процессов является суммирование и усиление ошибок каждого из них. В клинических и эпидемиологических исследованиях, в которых получают усредненные характеристики, характерны ошибки, вызванные селекцией; в практической же деятельности – смещения, вызванные существенным отличием реальных заболеваний и пациентов от "идеальных". Врач-исследователь практически всегда имеет дело не с единичными объектами, а с группами объектов, различающихся по известным и скрытым характеристикам. Примерами могут служить не только группы больных, но и другие совокупности – здоровые доноры компонентов крови и кост-