

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 аберрантных 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-