

Цель работы. Мониторинг минимальной резидуальной болезни (МРБ) у больных ММ на этапе высокодозной консолидации.

Материалы и методы. Обследованы 32 больных ММ (17 мужчин и 15 женщин) в возрасте от 41 года до 65 лет (медиана возраста 58 лет). Фаза заболевания после индукции бортезомибсодержащими схемами: ПР – 12, охЧР – 8, ЧР – 12. Мобилизация ГСК по схеме ЦФ 4г/м²+ Г-КСФ, кондиционирование перед ауто-ТСКК мелфалан 200 мг/м². После ауто-ТСКК ПР – у 19, охЧР – у 13. Образцы костного мозга исследовали методом многопараметрической проточной цитометрии (МПЦ) до мобилизации ГСКК, через 2–6 мес после ауто-ТСКК на проточном цитометре BD FACSCanto II, миеломные плазматические клетки (ПК) определялись по антигенам CD38/CD138/CD45/CD19/CD56/CD117/CD28 согласно протоколу A.Rawstron, 2006.

Влияние генетических аномалий на общую выживаемость больных множественной миеломой

Гарифуллин А.Д., Мартынкевич И.С., Волошин С.В., Шмидт А.В., Кувшинов А.Ю., Шуваев В.А., Фоминых М.С., Стельмашенко Л.В., Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М.

ФГБУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России, Санкт-Петербург

Введение. Использование современных протоколов лечения больных множественной миеломой (ММ) с применением ингибиторов протеасом, иммуномодуляторов, высокодозной химиотерапии вызывает необходимость поиска новых прогностических (в том числе генетических) маркеров.

Цель работы. Оценить частоту встречаемости генетических аномалий (ГА) и их влияние на общую выживаемость (ОВ) у больных ММ.

Материалы и методы. Мы оценили длительность ОВ у 103 больных ММ в возрасте от 28 до 93 лет (медиана возраста 61 год), которым выполняли генетические исследования. Соотношение мужчины/женщины – 1:1,3. Цитогенетический анализ клеток костного мозга выполняли по стандартной GTG методике. При исследовании методом FISH использовали ДНК-зонды: LSI 13(RB1)13q14, IGH/CCND1, IGH/FGFR3, LSI Trp53(17p13.1) (Abbott).

Результаты. Генетические аномалии выявлены у 28 (27,2%) больных: при цитогенетическом анализе у 8 (7,7%), при FISH у 20 (19,5%); у 9 (8,7%) нарушения были комплексными. У 75 (72,8%) больных хромосомные нарушения не выявлены. Сравнение частоты обнаружения ГА в группах моложе – 61(27,9%) и старше 65 лет – 42 (26,2%) различий не выявило. При этом комплексные нарушения кариотипа чаще встречались в старшей возрастной группе (9,5%), чем в группе больных моложе 65 лет (4,9%). Частота

МРБ < 0,01%, околопороговое количество миеломных ПК было определено в количестве 0,01–0,04% резидуальных клеток.

Результаты. При обследовании 12 больных в ПР, достигнутой в результате индукционной терапии, МРБ выявлена у 6 (50%). Околопороговое количество миеломных ПК определено у других 6 больных с ПР и 1 больного с охЧР. После ауто-ТСКК иммунохимическая ПР диагностирована у 19 больных, среди которых МРБ отмечена у 7 (37%) больных, при этом у остальных 12 больных выявлено околопороговое значение миеломных ПК.

Заключение. МПЦ является методом выбора для точного количественного определения резидуальных миеломных ПК у больных ММ на разных этапах терапии. Выявление МРБ после ауто-ТСКК свидетельствует о целесообразности назначения поддерживающей терапии.

встречаемости ГА в группах больных ММ, стратифицированных по Международной прогностической шкале (ISS), не имела статистически значимых различий: ISS-I – 12 (4,7%), ISS-II – 14 (7%), ISS-III – 17 (14%); $p > 0,05$ для всех групп сравнения. Сходные результаты были получены в группах больных с различным уровнем альбумина и β_2 -микроглобулина. ГА чаще встречались при секреции парапротеина класса IgG – у 61 (27,9%) больных и ММ Бенс-Джонса – у 5 (40%), реже при секреции IgA – у 15 (13,3%) и IgD – у 1(1%) больного, однако различия в частоте их выявления также не были статистически значимыми ($p > 0,05$). ГА t(4;14) была обнаружена у 3 (2,9%); t(11;14) – у 9(8,7%); del13q14 – у 11(10,7%); del17p – у 1 (1%) больного. У 4 больных выявлено сочетание t(11;14) с другими ГА: у 2 – с t(4;14), у 2 – с del13q14. Медиана ОВ у больных, имеющих генетические аберрации, составила 23,6 мес по сравнению с 43,2 мес у больных с нормальным кариотипом и отсутствием молекулярно-генетических маркеров.

Заключение. Генетические аномалии являются независимым прогностическим фактором у больных ММ. Наличие хромосомных нарушений негативно влияет на длительность общей выживаемости больных ММ. FISH-анализ позволяет повысить частоту определения высокоспецифичных генетических маркеров, играющих важную роль в диагностике и определении прогноза при ММ.

Динамика ПНГ-клона у больных апластической анемией

Глазанова Т.В., Шилова Е.Р., Чубукина Ж.В., Розанова О.Е., Кармацкая И.И., Бубнова Л.Н., Абдулкадыров К.М.

ФГБУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России, Санкт-Петербург

Введение. Известно, что, помимо больных с подтвержденным диагнозом ПНГ, клетки с ПНГ-фенотипом (ПНГ-клон) выявляются наиболее часто при апластической анемии (АА). Так, согласно современным представлениям, ПНГ-клон может быть выявлен более чем у половины больных АА. Наличие данного клона считается положительным прогностическим признаком в отношении результативности иммуносупрессивной терапии больных АА.

Цель работы. Изучение частоты выявления и динамики ПНГ-клона у больных АА.

Материалы и методы. Обследованы 69 больных АА. Исследование проводили методом многоцветной проточной цитометрии в соответствии с рекомендациями Международного общества проточной цитометрии (ICCS). В периферической крови определяли клетки с ПНГ-фенотипом среди гра-

нулоцитов (FLAER/CD24/CD15/CD45), моноцитов (FLAER/CD14/CD64/CD45) и эритроцитов (CD235a/CD59). Динамику ПНГ-клона на протяжении 1,5–3 лет с периодичностью исследований 1 раз в 6 мес прослеживали у 28 больных.

Результаты. ПНГ-клон был выявлен у 44 (63,8%) больных. Размер ПНГ-клона варьировал от 0,01 до 99,8%. При этом у 12 (27,3%) больных он составлял менее 1%, у 19 (43,2%) – более 10%. Проявления скрытого внутрисосудистого гемолиза выявляли, как правило, при размере патологического клона более 25%. Согласно полученным данным, наличие ПНГ-клона менее 10% клинического значения не имеет и существенными отклонениями в клинико-лабораторных показателях не сопровождается. При промежуточных размерах клона возможно транзиторное повышение ЛДГ (маркера внутрисосудистого гемолиза) в 1,5–2 раза по

сравнению с нормальными значениями. Клинически манифестный гемолиз с изменением цвета кожи и мочи, билирубинемией различной степени выраженности и постоянным превышением нормального уровня ЛДГ сыворотки крови в 5–6 раз и более отмечался при размерах ПНГ-клона, превышающих 80%. Изучение динамики ПНГ-клона у 28 больных показало, что у ¼ больных ($n = 7$) наблюдалось постепенное увеличение ПНГ-клона. В том числе нарастание размеров клона на 10% и более отмечено у 3 (10,7%) всех обследованных. У 1 больной за 2,5 года наблюдения клон вырос почти в 3 раза по сравнению с исходным уровнем

(с 30,3 до 82,4%) без существенного влияния на клиническое течение заболевания, несмотря на постепенно нарастающие признаки скрытого гемолиза. У 3 больных отмечено снижение содержания клеток с ПНГ-фенотипом, вплоть до исчезновения (у 1 больного с исходным клоном 1,3%). В этой подгруппе тенденция к уменьшению уровня патологических клеток наблюдалась у 1 больной с первично определенным клоном 80,7%. Что касается большей части больных АА/ПНГ – 13 (46,4%) в подгруппе и 5 больных с отсутствием патологического клона, то данные проточной цитометрии у них оставались стабильными.

Определение генетических полиморфизмов CCR5-Δ32 и CCR2-64I у доноров и ВИЧ-1-инфицированных больных

Глинщикова О.А., Февралева И.С., Макарик Т.В., Пивник А.В., Судариков А.Б.

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва; Московский клинический научно-практический центр департамента здравоохранения Москвы

Введение. Полиморфизмы генов, кодирующих хемоклиновые рецепторы CCR5 и CCR2, которые являются ко-рецепторами для вируса ВИЧ-1, могут влиять на вероятность заражения и течение ВИЧ-инфекции. Гомозиготная мутация CCR5-Δ32, при которой на поверхности клеток отсутствует функциональный белок CCR5, полностью препятствует проникновению вируса в клетки хозяина. По сравнению с носителями нормального генотипа у больных с гетерозиготной мутацией CCR5-Δ32 медленнее развиваются симптомы СПИДа, меньше вирусная нагрузка, медленнее снижается количество CD4⁺Т-клеток. В отношении других полиморфизмов генов (CCR5-59029, CCR2-64I, SDF1-3'A и др.), связанных с проникновением ВИЧ-1 в клетки, данные литературы не так однозначны. Кроме того, было показано, что распространенность этих мутаций отличается у разных этнических групп. Так, частота мутации CCR5-Δ32 у представителей европеоидной расы значительно выше, чем у африканцев и азиатов. Для русских и украинцев частота гетерозиготной мутации CCR5-Δ32 составляет в среднем 21%.

Цель работы. Определение частоты генотипов CCR5-Δ32 и CCR2-64I у доноров и ВИЧ-1-инфицированных больных (ВИЧ⁺).

Материалы и методы. Исследовано 59 образцов ДНК ВИЧ⁺-больных и 77 образцов ДНК доноров. Мультиплексную ПЦР в режиме реального времени для определения полиморфизмов CCR5-Δ32 и CCR2-64I проводили с праймерами, разработанными с помощью программы Primer 3.0, с наборами реагентов фирмы "Синтол" в соответствии с инструкцией.

Результаты и обсуждение. Гетерозиготная мутация CCR5-Δ32 выявлена у 20,8% доноров и 13,6% ВИЧ⁺-больных. Гомозиготная мутация CCR5-Δ32 – у 2,6% доноров и не обнаружена у ВИЧ⁺-больных. Гетерозиготная мутация CCR2-64I выявлена у 22,1% доноров и 23,7% ВИЧ⁺-больных. Гомозиготная мутация CCR2-64I выявлена у 2,6% доноров и не обнаружена у ВИЧ⁺-больных.

Заключение. Выявленные нами частоты распространения мутаций CCR5-Δ32 и CCR2-64I совпадают с данными литературы. Получены статистически значимые различия по частоте встречаемости генотипов CCR5-Δ32 в группах доноров и ВИЧ-инфицированных. По результатам частотного анализа в группе ВИЧ-инфицированных данная мутация встречается в гетерозиготном состоянии в 1,5 раза реже ($p < 0,05$), чем у доноров, а в гомозиготном не встречается вообще. Полученные результаты говорят в пользу гипотезы о протективных свойствах мутантного аллеля CCR5-Δ32.

Рестрикция гуморального иммунного ответа на антигены тромбоцитов систем HPA и HLA у гематологических больных

Головкина Л.Л., Атрощенко Г.В., Пушкина Т.Д., Васильева М.Н., Михайлова Е.А.

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

Введение. Аллоиммунизация гематологических больных к антигенам систем HPA (Human Platelet Antigens) и HLA (Human Leukocyte Antigens) класса I является одним из основных иммунологических осложнений трансфузионной терапии тромбоцитами. В инициации гуморального иммунного ответа важную роль играют молекулы HLA класса II: аминокислотный состав пептидсвязывающих сайтов иммунокомпетентных клеток влияет на презентацию чужеродных белков рецепторам Т-лимфоцитов. Полиморфизм антигенов систем HPA и HLA, определяемый заменами аминокислот, влияет на презентацию иммуногенных олигопептидов вследствие изменения их пространственной конфигурации. HLA-рестриктированные механизмы аллоиммунизации на антигены систем HLA и HPA в трансфузиологии изучены недостаточно.

Цель работы. Изучение влияния HPA- и HLA-генотипа больного на антителообразование при трансфузиях тромбоцитов.

Материалы и методы. Обследованы 29 больных апластической анемией (АА), 18 – острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), 20 – острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), 300 доноров. Тканевое типирование локусов HLA-DRB1, -DQB1 (низкое и высокое разрешение) выполняли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с секвенс-специфическими праймерами, генотипирование локусов HPA-1, -2, -3, -4, -5, -6, -15 – методом ПЦР с аллель-специфическими праймерами. Сопоставление результатов иммуноферментного анализа с нативными и лишенными HLA тромбоцитами, микролимфоцитотоксического теста применяли для выявления и определения направленности антител, тромбоциты доноров с известным HPA-генотипом применяли для изучения специфичности анти-HPA-антител.

Результаты и обсуждение. Способность к антителообразованию у больных зависела от нозологической формы заболеваний, которые по частоте аллоиммунизации можно представить в следующем порядке: АА – ОМЛ – ОЛЛ. Опре-