

## Различия в поведении генов-партнеров по хромосомным транслокациям, ассоциированным с вторичными лейкозами, в условиях ингибирования ДНК-топоизомеразы II

М.А. Рубцов<sup>1</sup>, С.И. Глухов<sup>1</sup>, Л.В. Агеева<sup>1</sup>, С.В. Разин<sup>1,2</sup>, О.В. Яровая<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Кафедра молекулярной биологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова;

<sup>2</sup> Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

Гены *AML1* и *ETO* человека, равно как и пара *MLL/AF9*, известны как частые партнеры по хромосомным транслокациям, ассоциированным с развитием так называемых "обусловленных лечением" или "вторичных" лейкозов (treatment-related leukaemias, t-ANLL) у пациентов, получавших химиотерапевтическое лечение с применением препаратов, специфически ингибирующих фермент ДНК-топоизомеразу II. Для лучшего понимания механизмов, приводящих к возникновению перестроек t(8;21)(q22;q22) и t(9;11)(p22;q23), мы проанализировали степень взаимной колокализации генов *AML1/ETO* и *MLL/AF9* попарно в культуре клеток человека лимфоидной природы (линия Jurkat). С применением техники трехмерной флуоресцентной гибридизации *in situ* (3D FISH), мы показали, что, по меньшей мере, в 5% популяции клеток Jurkat, аллели *AML1* и *ETO* находятся в непосредственной близости. И количество сближенных аллелей *AML1* и *ETO* двукратно возрастает в клетках, обработанных этопозидом – специфическим ингибитором ДНК-топоизомеразы II. Причем более чем в половине детектированных случаев, колокализация генов *AML1* и *ETO* в необработанных клетках наблюдается на поверхности ядрышка, а в клетках, обработанных этопозидом, доля таких сигналов увеличивается до 80%. Что же касается генов *MLL* и *AF9*, то, несмотря на высокую вероятность нахождения на поверхности ядрышка вне

зависимости от обработки этопозидом (до 14% в случае каждого из генов), доля сближенных аллелей *MLL* и *AF9* остается стабильно невысокой (не более 2%), что практически не отличается от вероятности случайной встречи двух генов в трехмерном пространстве ядра.

Роль ядрышка в сближении и процессировании разорванных концов ДНК на сегодняшний день остается не выясненной, несмотря на то, что возможность участия этого многофункционального ядерного компартмента в репарации ДНК обсуждается в последние годы многими исследователями. В связи с этим, мы провели исследование, в результате которого показали, что сверхэкспрессия нуклеолина – одного из мажорных белков ядрышка, существенно изменяет чувствительность клеток Jurkat к обработке этопозидом. Полученные результаты позволяют предполагать наличие различных механизмов репарации разрывов ДНК, вносимых ДНК-топоизомеразой II, ошибки в которых могут приводить к хромосомным транслокациям.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (ГК П1339, 16.740.11.0629, 14.740.11.1201), с частичным использованием средств РФФИ (гранты 10-04-00305-а, 09-04-93105-CNRS-а), программы МКБ президиума РАН, гранта компании ОПТЭК (Carl Zeiss) и гранта Президента Российской Федерации (МК-222.2011.4).

## Эффективность трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в лечении больных миелодиспластическим синдромом

Ю.В. Рудницкая, Е.В. Морозова, Н.Н. Мамаев, А.Л. Алянский, Б.В. Афанасьев

Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Санкт-Петербург; Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова

**Введение.** Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является единственным методом излечения больных миелодиспластическим синдромом (МДС). Консервативная терапия больных МДС (заместительная терапия компонентами крови и ростовыми факторами, цитостатики, иммуносупрессивная терапия; гипометилирующие препараты) носит преимущественно паллиативный характер. Алло-ТГСК при МДС сопряжена с высокой летальностью, которая зависит от развития таких осложнений как, отторжение трансплантата, реакции "трансплантат против хозяина" (РТПХ), инфекционных осложнений. МДС – заболевание лиц старшей возрастной группы, имеющих ряд сопутствующих заболеваний. Таким образом, отдаленные результаты алло-ТГСК зависят от степени токсичности режима кондиционирования. Миелоаблативные режимы кондиционирования (МАК) сопровождаются развитием органной недостаточности, мукозитом тяжелой степени, веноокклюзионной болезнью. В тоже время режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью доз (РКСИД) могут увеличивать частоту рецидивов основного заболевания. Цель исследования – оценить эффективность алло-ТГСК с использованием различных режимов кондиционирования и источников трансплантата у больных МДС.

**Материалы и методы.** Алло-ТГСК выполнена у 70 больных в возрасте 18–73 лет (медиана возраста 53 года). По классификации IPSS 21 (30%) больных отнесены к группе промежуточного-1 риска, 23 (32%) к группе промежуточно-2, 13 (19%) к группе высокого риска, у 13 больных – диагноз ХММЛ. Родственная алло-ТГСК проведена у 16 (23%), неродственная – у 54 (77%) больных. Костный мозг (КМ) в качестве источника гемопоэтических клеток использовали у 9 (13%), периферические стволовые клетки крови (ПСКК) – у

61 (87%) больных. От полностью совместимых доноров проведено 47 (67%) алло-ТГСК, от частично несовместимых – 23 (33%). РКСИД перенесли – 55 (79%), МАК – 15 (21%). Профилактику острой РТПХ проводили циклоспорином-А (ЦСА) у 63 (91,3%) больных в комбинации с метотрексатом (10 мг/м<sup>2</sup> дни +1, +3, +6) или микрофенолат мофетиллом (ММФ), либо такролимусом – у 6 (8,7%) в комбинации с ММФ или метотрексатом. Метотрексат получили 22 из 70 больных (31%). В случае алло-ТГСК от неродственного донора использовали, АЛГ в дозе 60–80 мг/кг.

**Результаты и обсуждение.** Общая 5-летняя выживаемость (ОВ) составила 70 (53%). МАК имеют большую эффективность по сравнению с РКСИД: показатели ОВ у больных МДС составили 80% и 45% соответственно ( $p = 0,08$ ). ОВ больных при неродственной алло-ТГСК не отличается от ОВ при родственной алло-ТГСК и не зависит от источника трансплантата. Возраст больного (старше 50 лет) и неблагоприятный кариотип являются факторами, снижающими ОВ после алло-ТГСК. Показатели ОВ выше в группе, где донором был мужчина, а реципиентом женщина – 77% ( $p = 0,04$ ). Показатели ОВ выше при количестве CD34<sup>+</sup> в трансплантате более 3,0 x 10<sup>6</sup>/кг ( $p = 0,04$ ). Кумулятивная частота отторжения ниже у больных, получивших трансплантат с высокой клеточностью (2% по сравнению с 24% в группе больных с трансплантатом с низкой клеточностью;  $p = 0,004$ ). При использовании ПСКК кумулятивная частота отторжения трансплантата меньше, чем у больных, получивших КМ – 2% и 22%-, соответственно ( $p = 0,005$ ). Применение метотрексата в профилактике острой РТПХ увеличивает ОВ больных после алло-ТГСК с применением РКСИД (с/без метотрексата – 70% и 38% соответственно;  $p = 0,06$ ). Острая РТПХ тяжелой (III–IV) степени развивается чаще при МАК по

сравнению с РКСИД 33% и 12% соответственно ( $p = 0,07$ ). Вероятность рецидива заболевания выше при проведении РКСИД ( $p = 0,05$ ) и неблагоприятном кариотипе ( $p = 0,01$ ).

**Заключение.** Алло-ТГСК является методом выбора у больных МДС высокого риска. При отсутствии противопо-

казаний целесообразно проведение МАК. Для увеличения ОВ больных при РКСИД необходимо проведение профилактики острой РТПХ, содержащей метотрексат. Использование трансплантата с высокой клеточностью ( $CD34^+$  более  $3,0 \times 10^6/\text{кг}$ ) улучшает результаты алло-ТГСК.

### Роль инфузий донорских лимфоцитов в профилактике и лечении онкогематологических заболеваний после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

О.А. Слесарчук, Е.В. Семенова, С.Н. Бондаренко, Е.В. Бабенко, М.А. Эстрина, И.В. Казанцев, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев  
Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

**Материалы и методы.** Нами был проведен ретроспективный анализ данных 95 больных в возрасте от 1 года до 67 лет (средний возраст 25,8 года), получавших терапию по поводу острых лейкозов ( $n = 63$ ), миелодиспластического синдрома ( $n = 7$ ), хронической миелолейкоз (ХМЛ) ( $n = 9$ ), лимфом ( $n = 16$ ). Трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) выполняли от совместимого родственного ( $n = 32$ ), совместимого неродственного ( $n = 43$ ) либо от гаплоидентичного родственного донора ( $n = 20$ ). Миелоаблативный режим кондиционирования использовали у 26 больных, режим кондиционирования со сниженной интенсивностью доз проведен 69 больным. Инфузий донорских лимфоцитов (ИДЛ) выполняли с целью лечения рецидива (или прогрессии) основного заболевания ( $n = 69$ ), профилактики рецидива в связи с высоким риском ( $n = 7$ ), наличием признаков "минимальной остаточной болезни" (МОБ) ( $n = 7$ ) или смешанного химеризма ( $n = 12$ ). Медиана времени использования ИДЛ после трансплантации аллогенного костного мозга (алло-ТКМ) с лечебной целью составила 98 (13–1212) дней, с профилактической – 113 (33–137) дней. Больные получили от 1 до 6 ИДЛ с целью профилактики (начальная доза в среднем составила  $1 \times 10^6$  ( $1 \times 10^4$ – $6,6 \times 10^6$ )  $CD3^+/\text{кг}$ ), от 1 до 5 ИДЛ с целью лечения рецидива (или прогрессии) основного заболевания (начальная доза в среднем составила  $2,2 \times 10^6$  ( $1,3 \times 10^4$ – $1,5 \times 10^7$ )  $CD3^+/\text{кг}$ ). Больным, получавшим повторные ИДЛ, проводили эскалацию дозы. У 5 из 26 больных с профилактической ИДЛ проводили дополнительную терапию (иматиниб, дазатиниб, дакоген). С целью лечения рецидива (или прогрессии) основного заболевания ИДЛ в монорежиме получили 9 больных, в комбинации с дополнительной терапией (циторедуктивная терапия, ингибиторы тирозинкиназ, цитокины) – 60 больных.

**Результаты и обсуждение.** Время наблюдения с момента 1-й ИДЛ составило от 1 до 59 мес. Среди больных, получивших терапевтические ИДЛ, 27 (39%) ответили на терапию, из них 18 (67%) достигли полной ремиссии. Полный донорский химеризм был достигнут у 7 (58%), полная ремиссия – у 5 (71%) больных с МОБ. После профилактического использования ИДЛ длительность ремиссии составила от 1 до 26 мес. У 2 больных диагностирован рецидив основного заболевания в течение 1 и 4 мес после ИДЛ. У 5 (19%) больных с профилактическими ИДЛ наблюдали острую РТПХ III–IV степени, из них 2 больных умерли при наличии признаков острой РТПХ IV степени. Распространенную хроническую РТПХ наблюдали у 7 (27%) больных с профилактическими ИДЛ. Среди больных, получивших терапевтические ИДЛ острую РТПХ наблюдали у 18 (26%), острую РТПХ III–IV степени – у 9 (13%), 5 больных умерли по причине острой РТПХ IV степени. Распространенную хроническую РТПХ наблюдали у 8 (12%) больных после терапевтических ИДЛ. Общая 5-летняя выживаемость больных, получивших ИДЛ, составила 22%. Показатель общей 5-летней выживаемости больных с профилактическими ИДЛ был выше, чем у больных с терапевтическими ИДЛ (44% против 16% соответственно;  $p = 0,004$ ).

**Заключение.** Использование ИДЛ у больных после алло-ТГСК является эффективным методом для профилактики и лечения рецидива заболевания. Метод ассоциирован с высоким риском развития острой РТПХ III–IV степени, которая может стать основной причиной смерти. Вероятность данного осложнения может быть уменьшена при разработке новых методов адаптивной иммунотерапии, основанной на клеточной селекции и использования препаратов "таргетного" воздействия.

### Особенности диагностического подхода к эритроцитозам различного происхождения

М.А. Соколова, Н.Д. Хорошко, М.Г. Дмитриева, В.С. Журавлев, Н.Ш. Сагдиева, М.О. Егорова, Н.С. Моисеева, М.В. Нарейко, Э.Г. Гемджян, Я.Д. Сахибов

ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва

**Введение.** Цель исследования – показать распределение исследуемых пациентов по диагностическим группам; выявить диагностическую ценность значений гематокрита и гемоглобина, как возможных маркеров абсолютного эритроцитоза в группе больных с эритремией.

**Материалы и методы.** Обследован 61 больной (9 женщин и 52 мужчины) в возрасте 18–82 лет (средний возраст 46 лет) до начала какой-либо терапии. Средние значения концентрации гемоглобина у женщин 171 г/л (143–190 г/л), гематокрита 52% (49–61%). У мужчин средние значения гемоглобина 187 г/л (168–196 г/л) и гематокрита 57,8% (49–65%). Все образцы крови были взяты в утренние часы. Полная гемограмма образцов венозной крови с консервантом (ЭДТА) исследована по принципу Култера с помощью анализатора крови Gen S ("Beckman-Coulter", США). С помощью радиоизотопного метода ( $^{51}\text{Cr}$ ) были определены масса циркулирующих эритроцитов и объем плазмы. Результаты рассчитаны

с учетом площади тела пациента и интерпретировались с использованием рекомендаций Международного комитета по стандартизации в гематологии (ICSH) (Pearson et al., 1995).

**Результаты и обсуждение.** Только у 19 (31%) из 61 исследуемого была выявлена эритремия, 15 пациентов отказались от дальнейшего обследования. Из 46 оставшихся пациентов группу с вторичным эритроцитозом составили 14 человек, из них 9 с абсолютным, эритроцитозом (гипоксический) и 5 – с идиопатическим эритроцитозом. Относительный ("видимый") эритроцитоз представили 13 пациентов. Измерение массы циркулирующих эритроцитов выделило группы больных с абсолютным и относительным эритроцитозом. Так, лабораторные параметры, включая гемоглобин, число эритроцитов и гематокрит не всегда полностью отражают значения массы эритроцитов из-за возможных вариаций объема плазмы и не могут являться основанием для установления гематологического заболевания. Показано, что содержание гемоглобина