

лейкозом (ОМЛ), которым выполнены совместимые родственные и неродственные алло-ТГСК с миелобластивными режимами (МАК; $n = 95$) и режимами кондиционирования со сниженной интенсивностью доз (РИК; $n = 65$). Мониторинг ЭБВ-виремии осуществлялся с помощью качественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в периферических мононуклеарах. Исследование проводили еженедельно со дня +1 до дня +100, при наличии реактивации ЭБВ к дню +100, еженедельное тестирование продолжали до получения отрицательного результата ПЦР.

Результаты и обсуждение. В многофакторном анализе определены факторы риска реактивации в различные периоды после алло-ТГСК. На первом месяце после алло-ТГСК (дни от 0 до +30) отмечали увеличение риска реактивации ЭБВ до приживления ГСК донора (ОР 36,06; 95% ДИ 10,69–121,68; $p = 0,00001$), уменьшение риска реактивации при использовании костного мозга в качестве источника ГСК (ОР 0,2; 95% ДИ 0,07–0,53; $p = 0,001$), в однофакторном анализе обнаружено увеличение риска реактивации при увеличении количества ядросодержащих клеток в трансплантате (ОР 1,42; 95% ДИ 1,01–1,97; $p = 0,04$), тенденция к увеличению риска реактивации ЭБВ у больных ОЛЛ (ОР 2,22; 95% ДИ 0,87–5,65; $p = 0,094$). Не обнаружено

статистически значимых факторов риска реактивации ЭБВ на 2-м месяце (дни от +31 до +60) после алло-ТГСК. На 3-м месяце отмечали статистически значимое уменьшение риска реактивации ЭБВ при использовании РИК (ОР 0,19; 95% ДИ 0,04–0,85; $p = 0,03$), увеличение риска при частичной НЛА-совместимости реципиента и донора (ОР 6,41; 95% ДИ 1,51–27,28; $p = 0,01$). В многофакторном анализе обнаружена тенденция к повышению риска фатальных инфекционных осложнений при реактивации ЭБВ на 3-м месяце после алло-ТГСК (дни от +61 до +90): ОР 6,77; 95% ДИ 0,74–61,7; $p = 0,09$. Не обнаружено сопряженности реактивации ЭБВ и острой и хронической реакции "трансплантат против хозяина", статистически значимого влияния реактивации ЭБВ на общую, бессобытийную выживаемость, трансплантационную летальность.

Заключение. Учитывая известную сопряженность ЭБВ-виремии и ЭБВ-ЛПС, больные групп риска по реактивации ЭБВ-инфекции нуждаются в тщательном мониторинге и при необходимости превентивной терапии для предотвращения ЭБВ-ЛПС. Реактивация ЭБВ на 3-м месяце посттрансплантационного периода может быть маркером замедленного иммунного восстановления и риском фатальных инфекционных осложнений.

Частота встречаемости гипергомоцистеинемии у больных хроническими миелопролиферативными заболеваниями и множественной миеломой

В.М. Шмелева, К.М. Абдулкадыров, С.С. Бессмельцев, Т.Б. Замотина, В.Ю. Удальева

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

Введение. Развитие тромбозов при хронических миело-пролиферативных заболеваниях (ХМПЗ) и множественной миеломе (ММ) в значительной степени определяет жизненный прогноз больных. Данные о роли гипергомоцистеинемии (ГГЦ) в развитии тромбозов при ХМПЗ и ММ ограничены и противоречивы. Цель работы – изучение частоты встречаемости ГГЦ у больных ХМПЗ и ММ с наличием тромботических осложнений в анамнезе и без таковых.

Материалы и методы. Обследован 181 больной: 100 больных ММ, 61 – истинной полицитемией (ИП), 13 – эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ) и 7 – первичным миелофиброзом (МФ), контрольная группа ($n = 200$), а также группы сравнения больных негематологическими заболеваниями с венозными ($n = 447$) и артериальными ($n = 110$) тромбозами в анамнезе. Уровень гомотеина (ГЦ) в плазме определяли иммуноферментным методом (Axis Shield Diagnostics Ltd). Значения ГЦ выше 13,5 мкмоль/л (90% процентиль в контроле) расценивали как ГГЦ.

Результаты и обсуждение. Средний уровень ГЦ составил $18,2 \pm 17,7$ мкмоль/л у больных ММ, $12,6 \pm 6,9$ мкмоль/л у больных ИП, $13,3 \pm 9,6$ мкмоль/л у больных ЭТ и $12,4 \pm 4,6$ мкмоль/л у больных МФ, что статистически значимо

($p < 0,05$) выше соответствующего показателя в контрольной группе ($9,3 \pm 3,9$ мкмоль/л). Частота встречаемости ГГЦ у больных также статистически значимо превышала таковую в контрольной группе (39% при ММ, 29,5% при ИП, 30% при ЭТ и 28% при МФ против 8,8%; $p < 0,001$). Тяжелая ГГЦ (выше 70 мкмоль/л) выявлена только у 8% больных ММ. Тромботические осложнения в анамнезе отмечены у 9,8% больных ХМПЗ и 4% больных ММ. ГГЦ чаще выявляли у больных с тромботическими осложнениями (75% против 25%; $p < 0,05$). Средний уровень ГЦ у больных ХМПЗ с тромботическими осложнениями в артериальном русле составил $16,8 \pm 2,6$ мкмоль/л, в венозном русле – $20,4 \pm 12$ мкмоль/л, что статистически значимо ($p = 0,0004$) выше показателя ГЦ у больных ХМПЗ без тромботических осложнений ($9,6 \pm 5,9$ мкмоль/л). ГГЦ выявили у 100% больных ХМПЗ с артериальными и 60% больных с венозным тромбозом в анамнезе (против 52% и 40% в группах негематологических больных соответственно).

Заключение. Полученные результаты позволяют предполагать, что своевременная диагностика ГГЦ при ХМПЗ и ММ может способствовать улучшению профилактики тромботических осложнений при данных заболеваниях.

Экспрессия гена *WT1* для мониторинга минимальной резидуальной болезни и оценки риска рецидива у больных острым лейкозом

И.В. Шмунк¹, О.В. Коробицына², Е.П. Конева¹, Т.А. Сулова¹, М.Н. Захарова², М.О. Киселева², М.А. Любченко², Ю.А. Маркова², А.В. Коробкин²

¹Лаборатория иммуногенетики, Челябинская областная станция переливания крови; ²Отделение гематологии, Челябинская областная клиническая больница

Введение. Ген *WT1* (Wilm's tumor 1) кодирует фактор транскрипции, вовлеченный в нормальное кроветворение, и гиперэкспрессируется в большинстве случаев острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Цель работы – оценить полезность *WT1* как маркера минимальной резидуальной болезни (МРБ) у взрослых больных острыми лейкозами (ОЛ).

Материалы и методы. Экспрессию *WT1* оценивали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией в режиме реального времени, в соответствии с протоколом программы Europe Against Cancer. В качестве контрольного гена использовали b-GUS. Исследовали об-

разцы костного мозга: в дебюте у 109 больных ОМЛ, 16 – острым промиелоцитарным лейкозом (ОПЛ), 45 – острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ); в ходе лечения 337 образцов больных ОМЛ + ОПЛ, 136 образцов больных ОЛЛ.

Результаты и обсуждение. Медиана уровня экспрессии *WT1* в дебюте составила: m_n (ОМЛ) = 662 (интервал 2,4–16 283), m_n (ОПЛ) = 3968 (1236–8103), m_n (ОЛЛ) = 1134 (1,5–18 986). Медиана уровня *WT1* в ремиссии: m_r (ОМЛ) = 4,8 (4,6–23), m_r (ОПЛ) = 4,2 (1,9–16,2), m_r (ОЛЛ) = 6,3 (3,4–19,5). В дебюте 92% больных ОМЛ и 60% – ОЛЛ показали высокую экспрессию *WT1*, а именно более чем в 10 раз в срав-

нении с медианой уровня *WT1* в ремиссии. Среди больных В-ОЛЛ с высоким *WT1* в дебюте ($n = 17$) только у 2 (11%) обнаружен химерный ген *Bcr/Abl* (1 – p210 и 1 – p190), тогда как в группе больных В-ОЛЛ с низким *WT1* в дебюте ($n = 17$) химерный ген *Bcr/Abl* обнаружен у 8 (47%) больных (1 – p210 и 7 – p190), различия статистически значимы; $p = 0,03$ (Fisher Exact test). Гематологический рецидив при ОЛЛ коррелировал с увеличением экспрессии *WT1*: у 9 больных ОМЛ m(ОМЛ) = 1993 (157–7404) и у 7 – ОЛЛ m(ОЛЛ) = 1934 (31–5428). У больных ОМЛ и ОЛЛ при рецидиве обнаружено, что рост уровня *WT1* происходил раньше, чем был установлен факт гематологического рецидива. Для больных ОМЛ и ОЛЛ оценивали динамику снижения *WT1* по окончании курса консолидации: снижение на 2 логарифма (log) и более показали 73% больных в благоприятной подгруппе (ОЛЛ + ОМЛ с AML1/ETO, CBFB/MYH11), и только 25% в неблагоприятной подгруппе (ОМЛ с *Bcr/Abl*, *DEC/CAN*, *dupMLL*), различия

статистически значимы; $p = 0,033$ (Fisher Exact test). Для ОЛЛ и ОМЛ оценивали корреляцию между динамикой снижения *WT1* после консолидации и наступлением неблагоприятного события (рецидив, отсутствие молекулярной ремиссии при ОЛЛ) в течение курса лечения (в среднем 1 год): среди 19 больных с благоприятной динамикой снижения *WT1* на 2 log и более только у 4 (21%) отмечено неблагоприятное событие, тогда как у 21 больного с динамикой снижения *WT1* менее 2 log неблагоприятное событие отмечено у 12 (57%), различия статистически значимы; $p = 0,027$ (Fisher Exact test).

Заключение. Уровень экспрессии *WT1* можно использовать как дополнительный маркер мониторинга МРБ у больных ОЛ с высоким уровнем *WT1* в дебюте, особенно у тех, которые не имеют выявленного химерного гена как молекулярного маркера ОЛ. Низкая динамика снижения *WT1* после курса консолидации у больных ОМЛ и ОЛЛ может служить маркером повышенного риска рецидива.

Характеристика больных хроническим миелолейкозом с резистентностью к терапии иматинибом, у которых выполнено исследование мутаций киназного домена гена *BCR-ABL*

О.А. Шухов¹, Е.Ю. Чельшева¹, А.Г. Туркина¹, Г.А. Гусарова¹, О.Ю. Виноградова¹, С.В. Кузнецов¹, О.В. Лазарева¹, Н.А. Афанасьева³, С.Р. Горячева¹, Т.В. Иванова¹, Т.И. Колошейнова¹, Е.В. Аксенова², А.В. Мисюрин², Н.Д. Хорошко¹

¹ ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России; ² Федеральный научный клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева; ³ Городская клиническая больница №81, Москва

Введение. Точечные мутации киназного домена гена *BCR-ABL* (КД *BCR-ABL*) способны привести к изменению пространственной структуры белка *BCR-ABL*, повлияв на снижение аффинности ингибиторов тирозинкиназы (ИТК), что может снизить эффективность терапии. Исследование мутаций КД *BCR-ABL* является важным шагом в понимании механизмов резистентности у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ). Цель работы – охарактеризовать больных ХМЛ с резистентностью к терапии иматинибом (ИМ), у которых проводили исследование мутаций КД *BCR-ABL*. Определить частоту выявления и спектр мутаций КД *BCR-ABL*.

Материалы и методы. Проанализированы клинические данные у 59 больных ХМЛ – 22 (37,3%) лиц мужского пола и 37 (62,7%) женского в возрасте от 10 до 63 лет (медиана возраста на момент диагноза 40 лет). На момент диагноза хроническая фаза (ХФ) ХМЛ была у 53 (90%) больных, фаза акселерации (ФА) – у 6 (10%). Распределение больных ХФ ХМЛ по группам риска (по Sokal): группа низкого риска 19 (32%), группа промежуточного риска – 18 (30%), группа высокого риска – 22 (38%). Показаниями к проведению исследования на мутации КД *BCR-ABL* было развитие гематологической резистентности (ГР), цитогенетической резистентности (ЦР) или молекулярной резистентности (МР) при терапии ИМ. Медиана длительности болезни до начала лечения ИМ составила 18 мес (0–118) мес; медиана длительности терапии ИТК на момент выполнения исследования – 37 мес (2–110) мес. Исследование мутаций КД *BCR-ABL* выполняли методом прямого секвенирования ДНК.

Результаты и обсуждение. Мутации КД *BCR-ABL* выявлены у 30 (57%) и у 5 (83%) больных ХМЛ в ХФ и ФА соответственно. В группе низкого риска (по Sokal) мутации выявлены у 9 (47%) больных, в группе промежуточного риска – у 10 (56%), в группе высокого риска – у 10 (45%). Медиана длительности терапии ИТК на момент исследования составила 51 мес (3–110) мес у больных с мутациями и 33 мес (2–96) мес

у больных без мутаций. Критериями резистентности были: первичная ГР – отсутствие полного гематологического ответа (ПГО) к 3-м мес терапии; первичная ЦР – отсутствие большого цитогенетического ответа (БЦО) к 12-м мес терапии и полного цитогенетического ответа (ПЦО) к 18-м мес; первичная молекулярная резистентность – отсутствие полного молекулярного ответа (ПМО) через 12 мес после достижения ПЦО. Вторичная резистентность – потеря достигнутого ответа, подтвержденная в двух исследованиях подряд. ГР (первичная и вторичная) констатирована у 13 (22%) больных, из них у 10 (77%) выявлены мутации. Первичная ЦР – у 37 (62,7%) больных, из них у 18 (48,6%) выявлены мутации; вторичная ЦР – у 8 (13,6%), из них у 6 (75%) выявлены мутации. Первичная МР была у 1 (1,7%) больной с мутацией КД *BCR-ABL*.

Локализация выявленных мутаций представлена следующим образом: Р-петля – у 17 (48,6%), SH2 домен – у 8 (22,9%), промежуточная последовательность – у 6 (17%), каталитический домен – у 2 (5,7%), А-петля – у 1 (2,9%), С-концевая часть – у 1 (2,9%). Спектр выявленных мутаций: G250E – у 7 (20%), E255K, T315I – по 4 (11,43%) каждая, M244V, S348L – по 3 (8,57%), F317L, F359V, M351T – по 2 (5,71%), E334G, E355A, E459A, H396R, F359C, K247R, Q252H, L248V – по 1 (2,86%). Наиболее клинически значимые (T315I, G250E, E255K, F317L, F359V) – 19 (54,29%).

Заключение. У больных ХМЛ с мутациями КД *BCR-ABL* чаще наблюдалась ГР и вторичная ЦР, чем у больных без мутаций; также эти больные имели более длительный срок терапии ИТК до момента исследования. Наибольшее число выявленных мутаций локализовано в области фосфатного домена (Р-петля), влияющей на перевод *BCR-ABL* киназы в активную конформацию, что может послужить ключевым фактором снижения ингибирования мутантного клона при терапии ИМ. Необходим анализ большего количества данных для более полной характеристики больных.

Значение мутации *BRAF*^{V600E} в диагностике гемобластозов

И.А. Якутик, Л.С. Аль-Ради, Б.В. Бидерман, Е.А. Никитин, А.Б. Сударинов
ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва

Введение. Мутация *BRAF*^{V600E} обнаруживается при более чем 6% раковых заболеваний человека и имитирует фосфорилирование активационного сегмента киназного домена В-Raf серин/треонин киназы, что, в свою очередь, приводит к значительной активации Ras/Raf/MEK/ERK – каскада фосфорилирования. Данный каскад играет ключевую роль в процессах пролиферации и дифференциации

клеток, в том числе и кроветворных. Ранее было показано, что у 47 (100%) из 47 пациентов с диагнозом волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ) обнаруживается данная мутация (*BRAF*^{V600E}), тогда как ни в одном случае лимфомы маргинальной зоны селезенки или вариантной формы ВКЛ (характеризуемой лейкоцитозом и слабым ответом на терапию), мутация не выявлена [Tiaacci E. et al., 2011]. Более