

После стабилизации состояния (снижение частоты стула до 3 раз в сутки) проведено 4 курса ПХТ по программе mNHL-BFM-90 (блоки А-В с мабтерой). После завершения лечения полная регрессия клиники НЯК. Ремиссия диффузной В-ККЛ и НЯК сохраняется в течение 30 мес.

**Заключение.** Помимо стойкого эффекта в лечении диффузной В-ККЛ, достигнута быстрая, полная и длительная ремиссия НЯК. Данное наблюдение открывает перспективы для дальнейшего изучения эффективности цитостатической терапии НЯК.

### Т-клеточная клональность при аутоиммунной гемолитической анемии

Сидорова Ю.В., Смирнова С.Ю., Цветаева Н.В., Никулина О.Ф., Бидерман Б.В., Никулина Е.Е., Судариков А.Б.

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

**Введение.** Аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) проявляется аутоиммунным гемолизом и образованием антител к антигенам эритроцитов. Ведущая роль в патогенезе отводится В-клеткам, однако также показана роль различных субпопуляций Т-клеток в патогенезе болезней.

**Цель работы.** Изучение клональных субпопуляций Т-лимфоцитов у больных АИГА.

**Материалы и методы.** Т-клеточную клональность определяли по реаранжировкам генов  $\gamma$ - и  $\beta$ -цепей TCR методом ПЦР и фрагментного анализа у 27 больных АИГА, 20 здоровых лиц и 13 пациентов с другими анемиями. Изучена кло-

нальность субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup>).

**Результаты и обсуждение.** У 48,5% больных АИГА выявлена Т-клеточная клональность. Клоны сохраняются независимо от периода болезни, концентрации гемоглобина, терапии, принадлежат к CD8<sup>+</sup>-субпопуляции Т-лимфоцитов. Вероятно, клоны не принимают прямого участия в аутоиммунном процессе.

**Заключение.** Наличие Т-клеточной клональности в CD8<sup>+</sup>-субпопуляции Т-лимфоцитов у больных АИГА требует дальнейшего изучения значения данной субпопуляции в патогенезе АИГА.

### Нарушения мозгового кровообращения у детей с гематологическими и онкогематологическими заболеваниями

Скворцова Ю.В., Делягин В.М., Жарков П.А.

ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва

**Введение.** Нарушения мозгового кровообращения (НМК) обычно воспринимаются с позиции неврологов, занимающихся лечением пожилых пациентов. В педиатрии НМК – предмет внимания неонатологов. Педиатрическая группа пациентов изучена недостаточно, хотя доля больных, перенесших ишемический инсульт (ИИ) в возрасте 15–20 лет, составляет 0,8% от общего числа таких больных.

**Цель работы.** Усовершенствовать врачебную тактику при ведении больных детского и подросткового возраста с НМК путем изучения причинной, возрастной, половой структуры этого состояния, вероятных прогностических факторов.

**Материалы и методы.** Изучена заболеваемость НМК среди детей на примере одной из областей Центрального ФО. Наблюдали 182 больных в возрасте 2–22 лет (Me 5 лет). У 38 (20,9%) больных НМК развилось на фоне лейкозов (Me возраста 10 лет), у 15 (8,2%) – гипергомоцистемии (Me возраста 2 года), у 34 (18,7%) – тромбофилии (Me возраста 3 года), тромбоцитопении (1 больной) и апластической анемии (1 больной). У остальных детей НМК развились на фоне сосудистых аномалий (26 больных), неизвестных причин (29 больных), редких состояний (аутоиммунные заболевания, синдром MELAS, неконтролируемая гипертензия и др.). Проводили клиническое, лабораторное и инструментальное обследования.

**Результаты и обсуждение.** Заболеваемость НМК в детской популяции без учета неонатальных случаев колеблется по годам в пределах 0,93–1,1:100 000. Частота НМК по госпитальной статистике составляет 2,8:1000 больных в год в возрасте 0–11 лет и 0,7:1000 больных в год в возрасте 12–17 лет. Среди госпитализированных больных гематологическими и онкогематологическими заболеваниями НМК встречались не более чем в 2% случаев. НМК развились на фоне гиперлейкоцитоза

(4 больных), глубокой цитопении (3 больных), нейрорейкоза (1 больной), сепсиса (8 больных), генерализованной цитомегаловирусной инфекции (1 больной), проведении индукции (22 больных), консолидации, поддерживающей терапии, приема аспарагиназы. Среди всех наблюдаемых детей с тромбофилией ишемические инсульты развились у 45%. Выявлена зависимость локализации инсульта от основной причины. Так, при гипергомоцистемии инсульт чаще локализовался в средней мозговой артерии, при мальформации – в задней и передней мозговых артериях, при лейкозе – в средней мозговой артерии. Указанные различия оказались статистически значимы (метод  $\chi^2$ ;  $p = 0,05$ ). При тромбофилии различия в частоте НМК по бассейнам не обнаружены. При ишемических инсультах у детей с тромбофилией отмечалась большая распространенность минорного аллеля полиморфизмов *MTHFR* C677T, главным образом за счет гомозигот ( $p = 0,033$ ). Летальность при НМК в случае лейкоза как этиологического фактора составила 70%, при тромбофилии – 3–5%, при гипергомоцистемии и мальформациях – 7 и 4% соответственно. Из диагностических методов наиболее чувствительной является МРТ. МРТ особенно информативна при отрицательном результате. Максимальной специфичностью обладают МРТ- и МР-ангиография, особенно информативны указанные методы при положительном результате (с их помощью подтверждается диагноз). Период максимального риска повторного инсульта (26 больных) в нашей группе пациентов составляет приблизительно 2 нед от первого эпизода НМК.

**Заключение.** Заболеваемость инсультами в России соответствует мировым данным. НМК у ребенка требует исключения гематологических и генетических заболеваний, что определяет лечение и прогноз НМК.

### Молекулярная диагностика мутации T3151 у больных хроническим миелоидным лейкозом

Скоробогатова А.В.<sup>1</sup>, Абдуллаев А.О.<sup>2</sup>, Степанова Е.А.<sup>2</sup>, Шухов О.А.<sup>2</sup>, Судариков А.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им.М. В. Ломоносова; <sup>2</sup>ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

**Введение.** Мутация киназного домена гена *BCR-ABL* T3151 у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) обуславливает полную резистентность лейкозных клеток к терапии всеми

зарегистрированными ингибиторами тирозинкиназ (ИТК). Применяемые в настоящее время методы для диагностики мутации T3151 (прямое секвенирование, денатурирующая

жидкостная хроматография и др.) являются трудоемкими и относительно низкочувствительными. Учитывая крайне важное значение этой мутации для выбора терапии при ХМЛ, необходимы разработка и внедрение в практику более простых, но при этом высокоспецифичных методов диагностики.

**Цель работы.** Апробировать разработанную нами методику аллель-специфичной TaqMan ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) для количественной оценки мутации T315I у больных ХМЛ.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования явились 66 образцов мРНК, выделенной из клеток крови больных ХМЛ. Уровень экспрессии транскрипта гена *BCR-ABL* p210 в исследуемых образцах находился в пределах от 0,3 до 18%.

Для определения чувствительности метода нами были приготовлены разведения лейкоцитов пациента со 100% му-

тацией T315I с клетками линии K562 (50, 10, 5, 2,5, 1, 0,1%). Выделение мРНК, получение кДНК и аллель-специфичную ПЦР-РВ проводили с помощью наборов реагентов "РИБО-золь-Д", "Реверта-Л" ("ИнтерЛабСервис" и "Синтол", Россия) в соответствии с рекомендациями производителей.

**Результаты.** У 11 из 65 обследуемых пациентов отмечена резистентность к таргетной терапии. У 3 из 11 резистентных больных выявлен клон с мутацией T315I в количестве 2,73, 6,75 и 95% (T315I/BCR-ABL\*100%). Чувствительность метода составила до 0,1%.

**Заключение.** Метод для количественной оценки мутации T315I у больных ХМЛ позволяет обнаружить мутации при низких (до 0,1%) ее концентрациях, что может являться основой для своевременной диагностики наличия мутантного клона и выбора терапии у больных ХМЛ.

### Т-клеточная клональность при аутоиммунной гемолитической анемии

Смирнова С.Ю., Сидорова Ю.В., Цветаева Н.В., Никулина О.Ф., Бидерман Б.В., Никулина Е.Е., Судариков А.Б.

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

**Введение.** Аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) – редкое заболевание системы крови, которое сопровождается образованием антител к собственным антигенам эритроцитов и аутоиммунным гемолизом. В патогенезе АИГА ведущая роль отводится В-лимфоцитам. Однако в последние годы показано значение различных субпопуляций Т-клеток в патогенезе болезни. На мышиных моделях получено много доказательств непосредственного участия Т-лимфоцитов в патогенезе АИГА. Поскольку у мышей АИГА индуцируется различными манипуляциями (заражение вирусом, введение крысиных эритроцитов, делеция генов, врожденные дефекты и т.д.), невозможно полностью перенести эти данные на человека. Данная работа направлена на изучение клональных популяций Т-лимфоцитов у больных АИГА.

**Материалы и методы.** В работу включены 27 больных АИГА. В качестве контроля взяты 13 больных с другими анемиями и 20 здоровых лиц. Определение Т-клеточной клональности проводили по реаранжировкам генов  $\gamma$ - и  $\beta$ -цепей Т-клеточного рецептора (TCRG и TCRB). Для этого использовали метод ПЦР с мультиплексными системами праймеров Biomed-2 и последующий фрагментный анализ на секвенаторе ABI PRISM 3130 ("Applied Biosystems"). У 3 больных провели селекцию CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-лимфоцитов периферической крови с помощью наборов производства "Miltenyibiotec".

**Результаты и обсуждение.** При оценке Т-клеточной клональности по реаранжировкам генов *TCRG* и *TCRB* в группе

больных АИГА концентрация клональных Т-лимфоцитов была статистически значимо выше, чем в группе контроля (48,5 и 45,5% соответственно;  $p < 0,05$ ). Динамическое исследование у больных с выявленной Т-клеточной клональностью показало, что клональные Т-лимфоциты сохраняются независимо от концентрации гемоглобина, определяются в период как ремиссий, так и обострений, не исчезают после проводимой терапии и клинического улучшения (срок наблюдения 1–10 лет). Связь Т-клеточной клональности с полом, возрастом, длительностью, тяжестью заболевания, спленэктомией не найдена. Исследование клональности в различных популяциях Т-лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>) показало, что клональные лимфоциты принадлежат к CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитам.

**Заключение.** Отсутствие положительной корреляции частоты обнаружения Т-клеточных CD8<sup>+</sup>-клонов с течением заболевания, его тяжестью, длительностью, концентрацией гемоглобина свидетельствует об отсутствии прямой связи данных клонов с аутоиммунным процессом. Мы предполагаем, что персистенция иммунных клонов может опосредованно поддерживаться аутоиммунным процессом, однако данные клоны не принимают участия в развитии и поддержании гемолиза. Наличие Т-клеточной клональности в CD8<sup>+</sup>-субпопуляции лимфоцитов у больных АИГА требует дальнейшего изучения значения данной популяции в патогенезе заболевания.

### Сочетание триоксида мышьяка с полностью трансретиноевой кислотой в лечении рецидивов острого промиелоцитарного лейкоза в сравнении с химиотерапией

Соколов А.Н., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Кохно А.В., Савченко В.Г.

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

**Введение.** В 1990-е годы в мировой практике появился препарат триоксид мышьяка (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), эффективный в лечении рецидивов острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ).

**Материалы и методы.** С 2001 по 2013 г. в ГНЦ (Москва) у 10 больных с рецидивами ОПЛ применяли As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Медиана возраста 30 лет. Медиана длительности первых ремиссий 19 мес. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> назначали в качестве 2-й линии терапии 9 из 10 больных. На предыдущих этапах использовали интерферон- $\alpha$  + ATRA (3 молекулярных, 1 – цитогенетический рецидив) – без эффекта, 7+3 Ida (4 костно-мозговых рецидива – ремиссия достигнута у 2 больных), HAM (1 цитогенетический рецидив – не достигнута молекулярная ремиссия), AIDA (непродолжительная ремиссия у 1 из 3 больных). У 1

больного As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> назначали в 1-й линии лечения. У 7 больных доза As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> составляла 0,1 мг/кг, у 3 – 0,15 мг/кг. Длительность индукции составила 14 сут у 3 больных, 24–35 сут у 2 больных, 60 сут у 5 больных. С 1-го дня назначали ATRA в дозе 45 мг/м<sup>2</sup> (у 1 больного – с 29-го дня курса). Поддерживающую терапию As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> в сочетании с ATRA курсами 10–14 сут с интервалом 4 нед проводили на протяжении 10–15 мес.

**Результаты.** При 14-дневных курсах достигнуты ремиссии 65 и 72 мес у 2 из 3 больных (молекулярные рецидивы). При 24–35-дневных курсах – 1 ремиссия 12 мес из 2 больных (костно-мозговые рецидивы). 60-дневные курсы были эффективны у 5 из 5 больных, у 4 сохраняется ремиссия (4, 10, 18, 48 мес), у 1 – рецидив через 12 мес. У 3 больных вы-