

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 γ - и β -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⁺, CD8⁺, CD4⁺CD25⁺-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⁺, CD8⁺, CD4⁺CD25⁺) показало, что клональные лимфоциты принадлежат к CD8⁺ Т-лимфоцитам.

Заключение. Отсутствие положительной корреляции частоты обнаружения Т-клеточных CD8⁺-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⁺-субпопуляции лимфоцитов у больных АИГА требует дальнейшего изучения значения данной популяции в патогенезе заболевания.

Сочетание триоксида мышьяка с полностью трансретиневой 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 (As₂O₃), 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 As₂O₃. Медиана возраста 30 лет. Медиана длительности первых ремиссий 19 мес. As₂O₃ назначали в качестве 2-й линии терапии 9 из 10 больных. На предыдущих этапах использовали интерферон- α + 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 As₂O₃ назначали в 1-й линии лечения. У 7 больных доза As₂O₃ 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/м² (у 1 больного – с 29-го дня курса). Поддерживающую терапию As₂O₃ 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-

полнена алло-ТКМ, 2 живы в ремиссии. Умерли 4 больных: 1 больной – в 3-м рецидиве (длительность ремиссии 9 мес), 1 больной – в ремиссии от осложнений после алло-ТКМ, 1 – от прогрессии ОПЛ, у 1 больного наступила внезапная смерть при сроке ремиссии 72 мес.

Заготовка и применение аутологичных стволовых клеток у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей

Солдатенков В.Е., Четчин А.В., Каргин В.Д., Волошин С.В., Бураков В.В., Глазанова Т.В., Чубукина Ж.В., Павлова И.Е., Розанова О.Е.

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

Ключевым элементом технологии терапевтического ангиогенеза у больных с хронической ишемией нижних конечностей чаще всего является заготовка и введение аутологичных стволовых клеток периферической крови (ауто-СКПК). С помощью данной технологии в 2010–2013 гг. пролечены 20 больных (17 мужчин и 3 женщины). В их числе облитерирующий атеросклероз был у 16 (80%), болезнь Бюргера – у 4 (20%), сопутствующий сахарный диабет 2-го типа – у 2 больных. Средний возраст составил $60,9 \pm 7,7$ года. По клиническим проявлениям ишемии (по А.В.Покровскому–Фонтейну): IIa – IV стадии. Мобилизацию ауто-СКПК проводили с помощью гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) филграстима – 10 мкг/кг массы тела больного подкожно в течение 3 последовательных дней. Лейкоцитаферез выполняли на 4-й день от начала введения филграстима на аппарате Haemonetics^a MCS^a + LN 900-220E, протокол PBSC, через периферический венозный доступ (кубитальная вена); антикоагуляция – стандартный раствор АСД-А, соотношение антикоагулянта к объему крови – 1:9. Время афереза составило $72,7 \pm 9,6$ мин, объем сепарированной крови –

Заключение. As_2O_3 + АТРА в течение 60 сут с поддерживающей терапией являются более эффективным лечением рецидивов ОПЛ, чем химиотерапия. Интерферон- α + АТРА нецелесообразно использовать в лечении молекулярных и цитогенетических рецидивов ОПЛ.

$1715,7 \pm 198,5$ мл, объем концентрата СКПК – $48,4 \pm 16,1$ мл. У 2 больных аферез осложнился усилением болевого синдрома в пораженной конечности, потребовавшим введения анальгетиков. После стимуляции относительное содержание CD34⁺-клеток в периферической крови возрастало в среднем в 2,6 раза (0,079%), а абсолютное – в 22 раза ($0,044 \cdot 10^9$ /л против $0,002 \cdot 10^9$ /л в группе до стимуляции; $p \leq 0,005$). Относительное содержание CD34⁺-клеток в лейкоцитарном концентрате составило 0,28%, что было в 3,5 раза больше, чем в периферической крови после стимуляции (0,079%). Концентрат СКПК с абсолютным содержанием $0,779 \pm 0,167 \cdot 10^9$ /л CD34⁺-клеток, витальность $97,704 \pm 0,974\%$. Среднее время хранения концентрата СКПК от момента окончания афереза до введения больному составило $35,3 \pm 21,3$ мин. Введение трансплантата (концентрат СКПК) проведено внутримышечно из 30 точек по 1 мл под контролем УЗИ. Средняя доза введения больному составила $2,337 \cdot 10^7$ CD34⁺-клеток. В сроки наблюдения до 2 лет 6 мес достигнуто клиническое улучшение у 89,7% больных, не проводилось больших ампутаций и сохранена трудоспособность у работающей группы больных.

Применение аутологичной крови в трансфузионном обеспечении плановых операций у больных гемофилией

Солдатенков В.Е., Четчин А.В., Каргин В.Д., Бураков В.В., Титов А.Г.

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

Введение. Применение аутологичной крови является оптимальным методом восполнения кровопотери при трансфузионном обеспечении плановых оперативных вмешательств.

Данный метод у пациентов высокого риска с наследственными коагулопатиями практически не использовался.

Цель работы. В 2002–2013 гг. мы провели оценку эффективности и безопасности применения аутокрови у больных гемофилией.

Материалы и методы. Аутологичная кровь и гемокомпоненты использованы при оперативном лечении у 49 больных гемофилией. Использовали сочетание предоперационной заготовки и интраоперационной гемодилуции, реже

применяли также реинфузии дренажной крови и из операционной раны.

Результаты и обсуждение. Метод использован при оперативном лечении 49 больных гемофилией. Максимально предоперационно заготовлено до 1790 мл аутокрови от пациента, гемодилуция с заготовкой аутокрови выполнена в 39 случаях, проведены 33 предоперационных заготовки, 15 реинфузий из дренажа.

Заключение. Нарушений гемостаза вследствие применения аутологичной крови и ее компонентов не выявлено. Применение аутологичной крови и ее компонентов безопасно у больных гемофилией и позволяет повысить эффективность трансфузионного обеспечения планового оперативного лечения.

Молекулярно-генетическое исследование β -талассемии в России

Сурин В.Л., Демидова Е.Ю., Селиванова Д.С., Бурская В.О., Лучинина Ю.А., Колодей С.В., Цветаева Н.В.

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

Введение. β -талассемия – рецессивное наследственное заболевание, обусловленное мутациями в гене β -глобина. Талассемические мутации имеют, как правило, древнее происхождение и являются генетическими характеристиками для различных этнических групп.

Цель работы. Определение спектра мутаций в гене β -глобина у гетерозиготных носителей β -талассемии из России.

Материалы и методы. Определены мутации в гене β -глобина у 90 гетерозиготных носителей β -талассемии

(малая талассемия), относящих себя к русской популяции. Выявлена 21 различная мутация, 2 из которых являются новыми и ранее в мировой популяции не встречались. Это микроинсерция CD46insG и сочетанное нарушение CD49delC+CD50ACT→ATT(Thr→Ile). Полученный мутационный спектр существенно отличается от опубликованного ранее (M.Curuk и соавт., 1994), в котором преобладающей была средиземноморская микроделеция CD8delAA (38,7%). В нашем исследовании она обнаружена у 11 (12,2%) из 90 ге-