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% мутацией 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 "РИБОзоль-D", "Реверта-L" ("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 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_2O_3), 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_2O_3. Медиана возраста 30 лет. Медиана длительности первых ремиссий 19 мес. As_2O_3 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 As_2O_3 назначали в 1-й линии лечения. У 7 больных доза As_2O_3 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^2 (у 1 больного – с 29-го дня курса). Поддерживающую терапию As_2O_3 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-